



**PEMANFAATAN TEGANGAN LISTRIK UNTUK
MENINGKATKAN EKSTRAKSI MINYAK
MIKROALGA SEBAGAI BAHAN BAKU
BIODIESEL**

DISERTASI
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR DOKTOR

OLEH:

IMAM SOFI'I
147300100111001

**PROGRAM DOKTOR TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

DISERTASI

**PEMANFAATAN TEGANGAN LISTRIK UNTUK MENINGKATKAN
EKSTRAKSI MINYAK MIKROALGA SEBAGAI
BAHAN BAKU BIODIESEL**

Oleh :

IMAM SOFI'I
NIM 147100300111001

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 15 Mei 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat

Tim Promotor,

Prof. Dr. Ir. Sumardi H.S., M.S.
Promotor

Prof. Dr. Ir. Wignyanto, M.S.
Ko-Promotor 1

Dr. Ir. Bambang Susilo, M.Sc. Agr.
Ko-Promotor 2

Malang, Mei 2018

Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Brawijaya

Dekan,

Dr. Ir. Sudarminto Setyo Yuwono, M.App.Sc
NIP 196312161988031002

IDENTITAS TIM PENGUJI DISERTASI

Judul Disertasi : Pemanfaatan Tegangan Listrik untuk Meningkatkan Ekstraksi Minyak Mikroalga sebagai Bahan baku Biodiesel

Nama : Imam Sofi'i
NIM : 147100300111001
Program Studi : Teknologi Industri Pertanian

Komisi Promotor

Promotor : Prof. Dr. Ir. Sumardi H.S., M.S.
Ko-Promotor 1 : Prof. Dr. Ir. Wignyanto, M.S.
Ko-Promotor 2 : Dr. Ir. Bambang Susilo, M.Sc. Agr.

Tim Penguji

Penguji 1 : Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA.
Penguji 2 : Hadi Suyono, S.T., M.T., Ph.D.
Penguji 3 : Dr. Ir. Anik Martinah Hariati, M.Sc.
Penguji Tamu : Dr. Drs. Muhammad Alfian Mizar, M.P.

Tanggal Ujian Tertutup : 17 April 2018

Tanggal Ujian Terbuka : 15 Mei 2018

PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah disertasi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsurunsur plagiasi, saya bersedia disertasi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (DOKTOR) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, Mei 2018

Imam Sofii
NIM 147100300111001



MOTTO

“JALANILAH HIDUP DENGAN SELALU BERSYUKUR”



HALAMAN PERSEMBAHAN

**KUPERSEMBAHKAN KARYA KECILKU INI :
UNTUK BANGSA DAN NEGARA INDONESIA.....
UNTUK KEDUA ORANG TUAKU (ALM).....
UNTUK ISTRIKU.....
UNTUK ANAK-ANAKKU.....**



RIWAYAT HIDUP PENULIS

Penulis bernama Imam Sofi'i, dilahirkan di kota Malang pada tanggal 30 Desember 1967. Putra pertama dari pasangan Bapak Achmad Buadi (Alm) dan Ibu Chumrotin (Alm).

Pendidikan diawali dari SD Islam Ma'arif Sukun Malang tahun 1974-1980, SMP Negeri 2 Malang tahun 1981-1984, SMA Negeri 2 Malang tahun 1984-1987. Pada tahun 1987 di terima pada jenjang S-1 Universitas Brawijaya Malang, Fakultas Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian program studi Mekanisasi Pertanian melalui jalur PMDK lulus tahun 1992. Pada tahun 2002 melanjutkan studi jenjang S-2 di Institut Pertanian Bogor pada program studi Keteknikan Pertanian lulus tahun 2005. Pada tahun 2014 melanjutkan pendidikan jenjang S-3 di Universitas Brawijaya Malang pada program studi Teknologi Industri Pertanian. Pengalaman pekerjaan dimulai tahun 1994 sebagai dosen di Politeknik Negeri Lampung hingga sekarang.

Penulis,

Imam Sofi'i



UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan disertasi dengan judul : "Pemanfaatan Tegangan Listrik untuk Meningkatkan Ekstraksi Minyak Mikroalga sebagai Bahan baku Biodiesel".

Disertasi ini merupakan salah satu persyaratan yang harus dipenuhi untuk memperoleh gelar doktor. Penulisan disertasi ini dimulai dari penulisan proposal, pengumpulan data dilaboratorium, pengolahan data dan akhirnya jadi tulisan dalam bentuk laporan berupa tulisan disertasi.

Sehubungan dengan selesainya tulisan disertasi ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Direktur Polinela beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan penulis untuk melanjutkan studi.
2. Rektor Universitas Brawijaya beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjadi mahasiswa program doktor
3. Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya beserta jajarannya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menjadi mahasiswa program doktor
4. Pemerintah Indonesia melalui Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan beasiswa (BPPDN) sehingga penulis bisa melanjutkan studi dan melaksanakan penelitian sebagai bahan tulisan disertasi.
5. Prof. Dr. Ir. Sumardi H.S., M.S sebagai Promotor.
6. Prof. Dr. Ir. Wignyanto, M.S, sebagai Ko-Promotor.
7. Dr. Ir. Bambang Susilo, M.Sc.Agr. sebagai Ko-Promotor.
8. Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA sebagai dosen penguji
9. Dr. Ir. Anik Martinah Hariati, M.Sc sebagai dosen penguji
10. Hadi Suyono, S.T., M.T., Ph.D. sebagai dosen penguji
11. Dr. Drs. Muhammad Alfian Mizar, M.P sebagai dosen penguji
12. Seluruh dosen FTP-UB yang telah memberikan ilmunya kepada penulis
13. Orang tuaku, istriku, anak-anakku dan saudara-saudaraku yang selalu mendoakan kelancaran studiku.
14. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyelesaian studi.

Penulis menyadari banyaknya keterbatasan yang dimiliki oleh penulis, oleh karena itu saran-saran untuk penyempurnaan tulisan disertasi sangat diharapkan. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan Rahmat dan Karunia-Nya kepada kita semua sehingga kita dengan peran masing masing dapat membangun bangsa dan negara ini menjadi bangsa yang maju. Aamiin.

Malang, Mei 2018

Penulis,

RINGKASAN

Imam Sofii, Program Doktor Teknologi Industri Pertanian, **Pemanfaatan tegangan listrik untuk meningkatkan ekstraksi minyak mikroalga sebagai bahan baku biodiesel**. Promotor : Prof. Dr. Ir. Sumardi H.S., M.S., Ko-Promotor 1 : Prof. Dr. Ir. Wignyanto, M.S., Ko-Promotor 2 : Dr. Ir. Bambang Susilo, M.Sc.Agr.

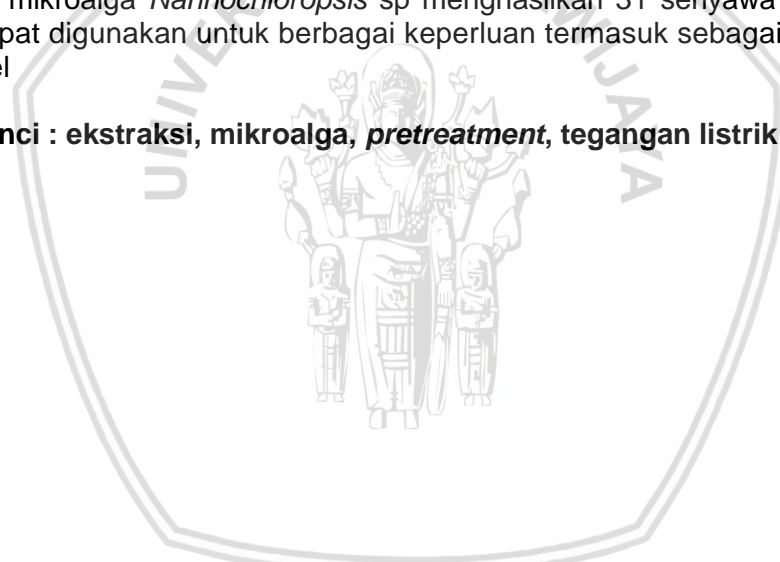
Biodiesel merupakan bahan bakar yang bersifat dapat diperbaharui, tidak beracun, dapat didegradasi, memiliki emisi rendah dan ramah lingkungan. Salah satu permasalahan pengembangan biodiesel adalah pada aspek bahan baku. Saat ini bahan baku biodiesel merupakan bahan pangan seperti sawit, kedelai, jagung, kelapa dan bahan baku lain seperti tanaman jarak, nyamplung, kapuk randu dan sebagainya. Bahan nabati yang memiliki potensi untuk dikembangkan dan bukan bahan pangan adalah mikroalga. Kendala penggunaan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel adalah proses pengeluaran minyak. Pengambilan minyak mikroalga memerlukan biaya yang besar, sekitar 30-50% dari biaya keseluruhan. Perlakuan pendahuluan terhadap mikroalga perlu dilakukan untuk mempermudah pengeluaran minyak. Minyak mikroalga terdapat pada sel yang dilindungi oleh membran sel. Agar minyak mudah dikeluarkan dari sel maka dinding sel perlu dirusak atau dibuat berpori. Metode yang memungkinkan untuk membuat pori pada membran sel adalah menggunakan aliran listrik. Terbentuknya pori akibat tegangan listrik disebut elektroporasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk (1) Mendapatkan metode *pretreatment* menggunakan aliran listrik untuk meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga sebagai bahan baku biodiesel. (2) Menentukan energi *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah dan listrik tegangan rendah dalam membantu meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga. (3) Menentukan asam lemak yang terkandung dalam minyak mikroalga *Nannochloropsis* sp.

Penelitian dilaksanakan pada bulan April 2016 sampai dengan April 2017 bertempat di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Laboratorium Tegangan Tinggi, Laboratorium Teknik Pengolahan Pangan Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Bahan yang digunakan adalah mikroalga *Nannochloropsis* sp. Penelitian dibagi menjadi 2 tahap. Tahap pertama menggunakan listrik tegangan menengah dengan kombinasi tiga perlakuan. Perlakuan pertama adalah tegangan (V_p) terdiri atas 3 level yaitu $V_{p1}=10,71$ kV; $V_{p2}=11,2$ kV; $V_{p3}=12,66$ kV, perlakuan kedua lama *pretreatment* (T_p) terdiri atas 2 level yaitu $T_{p1}=30$ detik, $T_{p2}=90$ detik, dan perlakuan ketiga molaritas larutan (M_p) terdiri atas 2 level yaitu $M_{p0}=0$ M dan $M_{p1}=0,1$ M. Penelitian tahap kedua menggunakan listrik tegangan rendah berasal dari listrik PLN dalam bentuk *Ohmic Heating* (OH) dengan perlakuan 3 faktor. Perlakuan pertama tegangan (V_h) terdiri atas 2 level yaitu $V_{h1}=55$ V dan $V_{h2}=110$ V, perlakuan kedua lama *pretreatment* (T_h) terdiri atas 2 level yaitu $T_{h1}=30$ detik, $T_{h2}=60$ detik, dan perlakuan ketiga adalah molaritas larutan (M_h) terdiri atas 3 level yaitu $M_{h0}=0$ M; $M_{h1}=0,01$ M dan $M_{h2}=0,1$ M. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan suhu dalam ruang *pretreatment*, arus dan tegangan listrik, rendemen minyak yang dihasilkan, dan komposisi asam lemak.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan *pretreatment* mempengaruhi rendemen minyak. *Pretreatment* listrik tegangan menengah dan listrik tegangan rendah dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut kimia dapat meningkatkan rendemen minyak mikroalga *Nannochloropsis* sp. Rendemen minyak mikroalga hasil ekstraksi menggunakan *pretreatment* listrik tegangan

menengah bervariasi antara 2,55-7,37%. Rendemen tertinggi pada kombinasi perlakuan tegangan 10,71 kV ($E=3,57$ kV/cm), lama paparan 30 detik dan molaritas larutan pengencer 0,1 M ($V_{p1}T_{p1}M_{p1}$) sedangkan terendah terjadi pada kombinasi perlakuan tegangan 12,66 kV ($E=4,22$ kV/cm), lama paparan 90 detik dan molaritas larutan pengencer 0 M ($V_{p3}T_{p2}M_{p0}$). Rendemen minyak mikroalga hasil ekstraksi menggunakan *pretreatment* listrik tegangan rendah berkisar antara 3,06-11,20%. Rendemen tertinggi dihasilkan oleh kombinasi perlakuan tegangan 55 V, lama paparan 60 detik dan molaritas larutan 0,1 M ($V_{h1}T_{h2}M_{h2}$) sedangkan terendah dihasilkan oleh kombinasi perlakuan tegangan 110 V, lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0,01 M ($V_{h2}T_{h1}M_{h1}$). Besarnya energi *pretreatment* per kg minyak dari penggunaan listrik tegangan menengah berkisar antara 2.540-33.740 kJ/kg. Konsumsi energi terkecil dibutuhkan oleh kombinasi perlakuan tegangan 12,66 kV, lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0,1 M ($V_{p3}T_{p1}M_{p1}$) sedangkan energi terbesar dibutuhkan oleh perlakuan 10,71 kV, lama paparan 90 detik dan molaritas larutan 0 M ($V_{p1}T_{p2}M_{p0}$). Besarnya energi *pretreatment* per kg penggunaan listrik tegangan rendah bervariasi antara 2.360-90.920 kJ/kg. Konsumsi energi paling rendah terjadi pada perlakuan tegangan 55 V, lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0 M ($V_{h1}T_{h1}M_{h0}$) sedangkan konsumsi energi terbesar terjadi pada perlakuan tegangan 110 V, lama paparan 60 detik dan molaritas larutan 0,1 M ($V_{h2}T_{h2}M_{h1}$). Hasil analisa GC-MS terhadap minyak mikroalga *Nannochloropsis* sp menghasilkan 31 senyawa asam lemak yang dapat digunakan untuk berbagai keperluan termasuk sebagai bahan baku biodiesel

Kata kunci : ekstraksi, mikroalga, *pretreatment*, tegangan listrik



Summary

Imam Sofi'i, Doctoral Program of Agricultural Industrial Technology, **Application of electrical voltage to increase extraction of microalgae oil as biodiesel feedstock**. Promoter: Prof. Dr. Ir. Sumardi H.S., M.S., Co-Promoter 1: Prof. Dr. Ir. Wignyanto, M.S., Co-Promoter 2: Dr. Ir. Bambang Susilo, M.Sc.Agr.

Biodiesel is a renewable, non-toxic, degradable, low emission and environmentally friendly fuel. One of the problems of biodiesel development is in feedstocks aspect. Currently biodiesel feedstocks are food such as palm, soybean, corn, coconut and other feedstocks such as jatropha, nyamplung, kapok and so on. Vegetable material that has the potential to be developed and not food is microalgae. The constraint of using microalgae as feedstocks of biodiesel is the process of oil expenditure. The extracting of microalgae oil costs a lot, about 30-50% of the cost of the whole. Preliminary treatment of microalgae needs to be done to facilitate oil put out. Microalgal oils are present in cells that are protected by cell membranes. In order for the oil to be easily removed from the cell, the cell wall needs to be damaged or made porous. The possible method to make pores on the cell membrane is to use the current of electricity. The formation of pores due to electrical voltage is called electroporation. The purpose of this research is to (1) get pretreatment method using electric current which can increase oil extraction result as feedstocks of biodiesel. (2) Determining pretreatment energy using medium and low voltage electricity to improve the extraction of microalgae oil. (3) Determining the fatty acids content in the microalgae oils *Nannochloropsis* sp.

The research was conducted from April 2016 until April 2017 at the Central Laboratory of Biological Sciences, High Voltage Laboratory, Agricultural Food Processing Technique Laboratory, Brawijaya University, Malang. The material used is microalgae *Nannochloropsis* sp. The study is divided into 2 stages. The first stage uses a medium voltage electric with three treatments combination. The first treatment is the voltage (V_p) consisting of 3 levels ie $V_{p1}=10,71$ kV; $V_{p2}=11,2$ kV; $V_{p3}=12,66$ Kv. The second is pretreatment duration (T_p) consists of two levels: $T_{p1}=30$ seconds, $T_{p2}=90$ seconds, and the third treatment is solution molarity (M_p) consists of 2 levels: $M_{p0}=0$ M and $M_{p1}=0,1$ M. The second stage of research using low voltage electricity from PLN electricity in the form of Ohmic Heating (OH) with 3 factor treatments. The first treatment of voltage (V_h) consists of 2 levels $V_{h1}=55$ V and $V_{h2}=110$ V, the second is pretreatment duration (T_h) consists of 2 levels ie $T_{h1}=30$ seconds, $T_{h2}=60$ seconds, and the third treatment are the molarity of the solution (M) consists of 3 levels ie $M_{h0}=0$ M; $M_{h1}=0,01$ M and $M_{h2}=0,1$ M. Observations to temperature change in the pretreatment chamber, electric current and voltage, yield of oil, and fatty acid composition.

The results showed that pretreatment affected oil yield. Medium voltage electrical pretreatment and low voltage electricity followed by extraction using chemical solvent can improve the oil recovery of *Nannochloropsis* sp. The extraction yield of microalgae oils using medium voltage electric pretreatment varies from 2,55-7,37%. The highest yield of the combined voltage treatment was 10,71 kV ($E=3,57$ kV/cm), 30 seconds of exposure and molarity of 0,1 M diluent solution ($V_{p1}T_{p1}M_{p1}$) while the lowest combination in the 12,66 kV voltage ($E=4,22$ kV/cm), 90 seconds of exposure time and molarity solution 0 M ($V_{p3}T_{p2}M_{p0}$). The extraction yield of microalgae oils using low voltage electric pretreatment ranged from 3,06 to 11,20%. The highest yield was produced by a combination of 55 V treatments, 60-second exposure time and 0,1 M ($V_{h1}T_{h2}M_{h2}$) molarity of the lowest produced by a combination of 110 V treatment, 30-second exposure and

0,01 M molarity ($V_{h2}T_{h1}M_{h1}$). The amount of pretreatment energy per kg of medium voltage electricity usage ranges from 2.540-33.740 kJ/kg. The smallest energy consumption is required by a combination of 12,66 kV voltage treatments, 30-second exposure time and 0,1 M solution molarity ($V_{p3}T_{p1}M_{p1}$) while the greatest energy is required by 10,71 kV treatments, 90 seconds of exposure and molarity of 0 M ($V_{p1}T_{p2}M_{p0}$).

The amount of pretreatment energy per kg of low voltage electricity usage varies from 2.360-90.920 kJ/kg. The lowest energy consumption occurs to the 55 V treatment voltage, 30 seconds exposure time and molarity of 0 M solution ($V_{h1}T_{h1}M_{h0}$) while the largest energy consumption occurs to a voltage treatment of 110 V, 60 seconds of exposure and molarity of 0,1 M solution ($V_{h2}T_{h2}M_{h1}$). The result of GC-MS analysis on *Nannochloropsis* sp lipid microalgae produced 31 fatty acid compounds which can be used for various purposes including as feedstock of biodiesel.

Keyword : extraction, microalgae, pretreatment, electrical voltage



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah S.W.T. yang telah memberikan Rahmat, Taufik dan Hidayah-Nya, sehingga disertasi dengan judul **“Pemanfaatan Tegangan Listrik untuk Meningkatkan Ekstraksi Minyak Mikroalga sebagai Bahan baku Biodiesel”** ini dapat terselesaikan. Disertasi disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Doktor Teknologi Industri Pertanian pada Program Pasca Sarjana Universitas Brawijaya.

Ketersediaan bahan bakar solar semakin menipis sehingga perlu dikembangkan bahan bakar solar terbarukan. Saat ini telah dikembangkan pengganti solar yaitu biodiesel dari tanaman penghasil minyak seperti sawit, kelapa, kedelai, jagung dan sebagainya. Bahan baku tersebut mudah diperoleh tetapi memiliki keterbatasan yaitu terjadi persaingan antara bahan pangan untuk konsumsi dan sebagai bahan baku energi sehingga perlu dicari bahan lain yang ketersediaanya melimpah tetapi tidak digunakan sebagai bahan pangan.

Alga khususnya mikroalga merupakan alternatif sebagai bahan baku biodiesel. Mikroalga mudah dibudidayakan dan tidak bersaing dengan bahan pangan. Keterbatasan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel adalah pada proses pengeluaran minyak atau ekstraksi yang masih cukup mahal. Pada penelitian ini akan dilakukan proses ekstraksi dengan perlakuan pendahuluan/*pretreatment* menggunakan bantuan listrik dalam bentuk aliran listrik tegangan menengah dan tegangan rendah dalam bentuk pemanasan ohmik. Dengan adanya perlakuan pendahuluan diharapkan akan mempermudah proses pengeluaran minyak mikroalga.

Penulis menyadari masih banyaknya kekurangan dalam penulisan disertasi. Semoga tulisan disertasi ini bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca.

Malang, Mei 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
IDENTITAS TIM PENGUJI DISERTASI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS DISERTASI	iv
MOTTO	v
PERSEMBAHAN	vi
RIWAYAT HIDUP PENULIS	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
RINGKASAN	ix
SUMMARY	xi
KATA PENGANTAR	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR SIMBOL	xx
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Batasan Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Mikroalga	5
2.2 Biodiesel	8
2.3 Ekstraksi	9
2.4 Elektroporasi	14
2.5 Kejut listrik tegangan menengah dan tegangan tinggi	19
2.6 <i>Ohmic Heating</i>	21
III. KERANGKA PIKIR PENELITIAN	23
3.1 Landasan Teori	23
3.2 Kerangka Konsep dan Hipotesis	24
3.3 Kerangka Analisis	28
3.4 Definisi operasional variabel dan pengukurannya	30
3.5 Kerangka operasional pelaksanaan penelitian	31
IV. METODE PENELITIAN.....	33
4.1 Waktu dan Tempat pelaksanaan	33
4.2 Bahan dan Alat	33
4.2.1 Bahan	33
4.2.2 Peralatan.....	35
4.3 Prosedur penelitian	37
4.4 Tahapan penelitian	39

V. HASIL DAN PEMBAHASAN	42
5.1 <i>Pretreatment</i> menggunakan listrik	42
5.1.1 Ekstraksi mikroalga menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan menengah	42
5.1.2 Ekstraksi mikroalga menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan rendah	48
5.2 Energi <i>pretreatment</i>	53
5.2.1 Perubahan suhu dan arus listrik selama <i>pretreatment</i>	53
5.2.2 Konsumsi energi <i>pretreatment</i> menggunakan listrik tegangan menengah.....	57
5.2.3 Konsumsi energi <i>pretreatment</i> menggunakan listrik tegangan rendah.....	58
5.3 Kandungan minyak mikroalga hasil ekstraksi	62
5.4 Perbandingan <i>pretreatment</i> menggunakan listrik tegangan menengah dan listrik tegangan rendah	65
5.5 Kebaruan penelitian	68
5.6 Implikasi hasil penelitian	69
VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	72
6.1 Kesimpulan	72
6.2 Saran	73

DAFTAR PUSTAKA



DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
2.1	Perbandingan produksi minyak dan biodiesel beberapa tanaman	7
2.2	Kandungan minyak dari beberapa spesies mikroalga	8
3.1	Ringkasan pengukuran variabel penelitian	31
4.1	Kombinasi perlakuan penelitian tahap pertama menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan menengah.....	38
4.2	Kombinasi perlakuan penelitian tahap kedua menggunakan <i>pretreatment</i> tegangan rendah (<i>Ohmic Heating</i>).....	38
5.1	Minyak hasil ekstraksi menggunakan listrik tegangan menengah.....	43
5.2	Uji BNT minyak hasil ekstraksi faktor perlakuan tegangan (V_p)	43
5.3	Uji BNT minyak hasil ekstraksi faktor perlakuan lama paparan (T_p)	46
5.4	Uji BNT minyak hasil ekstraksi faktor perlakuan molaritas (M_p).....	47
5.5	Minyak hasil ekstraksi menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan rendah	48
5.6	Uji BNT minyak hasil ekstraksi perlakuan tegangan (V_h)	49
5.7	Uji BNT minyak hasil ekstraksi perlakuan lama paparan (T_h)..	50
5.8	Uji BNT minyak hasil ekstraksi perlakuan molaritas (M_h)	51
5.9	Energi <i>pretreatment</i> per gram minyak menggunakan listrik tegangan menengah	57
5.10	Energi <i>pretreatment</i> per gram minyak menggunakan listrik tegangan rendah	59
5.11	Perubahan arus listrik selama 15 detik selama <i>pretreatment</i>	61
5.12	Asam lemak dalam minyak <i>Nannochloropsis</i> sp hasil analisa GC-MS	64
5.13	Energi <i>pretreatment</i> per berat minyak antara tegangan menengah dan tegangan rendah	67

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Minyak dalam sel mikroalga	7
2.2	Reaksi transesterifikasi trigliserida secara keseluruhan	9
2.3	Skema elektroporasi sel dalam medan listrik.....	16
2.4	Pengaruh kekuatan listrik, durasi pulsa dan jumlah pulsa terhadap tingkat elektroporasi.....	17
2.5	Pengaruh amplitudo pulsa dan jumlah pulsa terhadap tingkat elektroporasi	18
2.6	Skema <i>Ohmic Heating</i>	21
3.1	Faktor-faktor yang mempengaruhi minyak biodiesel berbahan baku mikroalga	25
3.2	Macam-macam metode ekstraksi mikroalga	26
3.3	Metode <i>cell disruption</i> oleh pengaruh luar	26
3.4	Kerangka konsep penelitian	27
3.5	Integrasi proses pemanfaatan mikroalga	30
3.6	Diagram alir penelitian Tahap I	30
3.7	Diagram alir penelitian Tahap II	30
4.1	Pasta <i>Nannochloropsis</i> sp	34
4.2	Foto <i>Nannochloropsis</i> sp pembesaran 1000x	34
4.3	Ruang <i>pre-treatment</i> tipe <i>batch</i>	36
4.4	Rangkaian peralatan <i>pretreatment</i> tegangan menengah	36
4.5	Rangkaian peralatan <i>pretreatment</i> tegangan rendah (<i>Ohmic Heating</i>)	37
4.6	Skema pelaksanaan penelitian	41
5.1	Rendemen minyak mikroalga menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan menengah pada tegangan yang berbeda	44
5.2	Ilustrasi membran sel yang mengalami elektroporasi	44
5.3	Rendemen minyak mikroalga menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan menengah pada lama paparan yang berbeda	46
5.4	Rendemen minyak mikroalga menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan menengah pada lama molaritas yang berbeda	47
5.5	Rendemen minyak mikroalga menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan rendah (<i>Ohmic Heating</i>) pada tegangan yang berbeda	49

5.6	Rendemen minyak mikroalga menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan rendah (<i>Ohmic Heating</i>) pada lama paparan yang berbeda	51
5.7	Rendemen minyak mikroalga menggunakan <i>pretreatment</i> listrik tegangan rendah (<i>Ohmic Heating</i>) pada molaritas yang berbeda	52
5.8	Perkembangan suhu selama <i>pretreatment Ohmic Heating</i>	54
5.9	Perkembangan arus listrik selama <i>pretreatment Ohmic Heating</i>	56
5.10	Perkembangan konsumsi energi selama <i>pretreatment Ohmic Heating</i>	62



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul lampiran	Halaman
1	Ringkasan metode ekstraksi mikroalga.....	85
2	Rendemen minyak mikroalga hasil ekstraksi menggunakan listrik tegangan menengah.....	88
3	Rendemen minyak mikroalga hasil ekstraksi menggunakan listrik tegangan rendah (<i>Ohmic Heating</i>).....	90
4	Energi <i>pretreatment</i> listrik tegangan menengah.....	92
5	Perubahan arus listrik dan energi selama <i>pretreatment</i> tegangan rendah	93
6	Konsumsi energi <i>pretreatment</i> tegangan menengah dan tegangan rendah.....	95
7	Foto-foto kegiatan penelitian.....	99



DAFTAR SIMBOL

Simbol	Keterangan	Satuan	Nomor
A	Luas area bahan yang akan dipanaskan	m ²	Pers. 2
d	Jarak elektroda	cm	Pers. 1
E	Kuat medan listrik	kV/cm	Pers. 1
I	Arus listrik	amper	Pers. 2,3
L	Jarak antar elektrode	m	Pers. 2
M _{h0}	Konsentras NaCl 0	M	Tabel 4.2
M _{h1}	Konsentrasi NaCl 0,01	M	Tabel 4.2
M _{h2}	Konsentrasi NaCl 0,1	M	Tabel 4.2
M _{p0}	Konsentras NaCl 0	M	Tabel 4.1
M _{p1}	Konsentrasi NaCl 0,1	M	Tabel 4.1
P	Energi total	kJ	Pers. 3
T	Waktu	detik	Pers. 3
T _{h1}	Lama paparan <i>pretreatment</i> 30	detik	Tabel 4.2
T _{h1}	Lama paparan <i>pretreatment</i> 60	detik	Tabel 4.2
T _{p1}	Lama paparan <i>pretreatment</i> 30	detik	Tabel 4.1
T _{p2}	Lama paparan <i>pretreatment</i> 90	detik	Tabel 4.1
V	Tegangan listrik	volt	Pers. 1,2,3
V _{h1}	Tegangan listrik 55	V	Tabel 4.2
V _{h2}	Tegangan listrik 110	V	Tabel 4.2
V _{p1}	Tegangan listrik 10,71	kV	Tabel 4.1
V _{p2}	Tegangan listrik 11,2	kV	Tabel 4.1
V _{p3}	Tegangan listrik 12,66	kV	Tabel 4.1
σ	Konduktivitas listrik	S/m	Pers. 2

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Biodiesel adalah bahan bakar diesel yang terbuat dari minyak nabati maupun lemak hewan yang bersifat dapat diperbaharui, tidak beracun, dapat didegradasi, memiliki emisi yang rendah dan ramah lingkungan (Krawczyk, 1996; Demirbas, 2008). Salah satu permasalahan pengembangan biodiesel adalah pada aspek bahan baku. Saat ini bahan baku biodiesel merupakan bahan pangan seperti minyak sawit, minyak kedelai, minyak jagung, minyak kelapa dan bahan baku lain yang terbatas seperti minyak jarak, minyak nyamplung, minyak kapuk randu dan sebagainya. Bahan nabati yang memiliki potensi untuk dikembangkan dan bukan bahan pangan adalah mikroalga (Mata *et al.*, 2010).

Selain itu, bahan baku minyak yang digunakan untuk biodiesel harus memiliki kandungan asam lemak bebas yang rendah. Jika kandungan asam lemak bebasnya tinggi yaitu $> 2\%$ maka proses pembuatan biodiesel tidak bisa dilakukan satu tahap tetapi menjadi dua tahap. Tahap pertama adalah reaksi esterifikasi dengan katalis asam dan dilanjutkan dengan tahap kedua melalui reaksi transesterifikasi dengan katalis basa. Kandungan asam lemak yang tinggi jika langsung direaksikan dengan katalis basa maka akan menyebabkan reaksi penyabunan yang akan menyulitkan pemisahan biodiesel dan menurunkan hasil.

Spesies mikroalga yang sudah dibudidayakan di Indonesia antara lain : *Nannochloropsis* sp, *Tetraselmis* sp, *Dunaliella* sp, *Spirulina* sp, *Porphyridium* sp, *Nitzschia* sp. Minyak yang dihasilkan oleh mikroalga cukup tinggi yaitu 136.900 L/ha/tahun dibandingkan minyak kelapa sawit 5.366 L/ha/th (Chisti, 2007). Kandungan minyak mikroalga tergantung dari spesies, cara kultur, nutrisi, ketersediaan cahaya dan waktu panen. Kandungan minyak dari beberapa spesies mikroalga dapat mencapai lebih dari 50%, minyak tersebut selanjutnya diolah menjadi biodiesel (Sheehan *et al.*; 1998; Briggs, 2004; Chisti, 2007).

Selain potensi kandungan minyak yang cukup menjanjikan, penggunaan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel memiliki kendala yaitu dalam hal pengeluaran minyak. Proses pengambilan minyak dari mikroalga ini memerlukan biaya yang besar yaitu sekitar 30%-50% dari biaya keseluruhan selain itu rendemen minyak yang terekstrak juga bervariasi tergantung metode ekstraksi yang digunakan. Saat ini proses pengambilan minyak mikroalga menggunakan cara pengepressan, pelarut kimia, *microwave*, *ultrasonic*, *osmotic shock*,

enzimatic dan CO₂ superkritis. Metode pengepressan dan pelarut kimia belum memberikan hasil yang maksimal dalam pengambilan minyak sedangkan metode dengan bantuan *microwave*, *ultrasonic*, *osmotic shock* dan CO₂ superkritis memberikan hasil yang tinggi tetapi biaya investasi peralatan yang mahal.

Proses pengeluaran minyak mikroalga sebagian besar dilakukan secara langsung setelah bahan dikeringkan tanpa *pretreatment*. *Pretreatment* merupakan perlakuan yang diberikan ke bahan sebelum perlakuan utama diberikan. Tujuan *pretreatment* adalah untuk membantu mempermudah pada proses ekstraksi sehingga rendemen minyak meningkat.

Metode yang digunakan untuk *pretreatment* bermacam-macam salah satunya adalah penggunaan tegangan listrik. Penggunaan listrik tegangan menengah (1-35 kV) dan tegangan tinggi (>35 kV) (SNI 04-0225-2000) dalam bentuk kejut listrik telah dilakukan oleh para peneliti untuk membantu meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikrolaga. Pemberian kejut listrik dilakukan hanya beberapa detik (mikrodetik) dengan besar tegangan sampai puluhan kilovolt (kV). Penelitian mengenai ekstraksi dengan bantuan listrik bertegangan lebih dari 1 kV telah dilakukan para peneliti terhadap mikrolaga *C. Vulgaris*, *sprirulina*, *Nanochloropsis* sp., *Auxenochlorella Protothecoides*, *Ankistrodesmus Falcatus*, *Dunaliella salina*, *Isocrysis* sp. (Kempkes *et al.*, 2011; Foltz, 2012; Eing *et al.*, 2013; Goettel *et al.*, 2013; Zbinden *et al.*, 2013; Flisar *et al.*, 2014; Grimi *et al.*, 2014; Qin *et al.*, 2014; Parniakov *et al.*, 2015).

Selain listrik tegangan menengah dan tegangan tinggi, listrik tegangan rendah (>50-1000 V) (SNI 04-0225-2000) juga telah digunakan untuk membantu ekstraksi. Lakkakula *et al.* (2004) dan Nair *et al.* (2012) telah menggunakan listrik tegangan rendah dalam bentuk *Ohmic Heating* sebagai metode *pretreatment* untuk membantu proses ekstraksi terhadap dedak padi.

Perlakuan *pretreatment* terhadap mikroalga sebagai bahan baku biodiesel perlu dilakukan untuk mempermudah pengeluaran minyak pada proses selanjutnya. Minyak mikroalga terdapat pada sel yang dilindungi oleh membran sel. Agar minyak mudah dikeluarkan dari sel maka dinding sel perlu rusak atau dibuat berlubang/berpori. Metode yang memungkinkan untuk membuat lubang atau pori pada membran sel adalah menggunakan aliran listrik. Terbentuknya lubang atau pori akibat pengaruh listrik disebut elektroporasi.

Elektroporasi dapat menggunakan listrik tegangan menengah dan tegangan tinggi dalam bentuk kejut listrik maupun menggunakan aliran listrik tegangan

rendah dalam bentuk *Ohmic Heating*. Dari beberapa artikel jurnal, sebagian besar menjelaskan penggunaan listrik tegangan menengah dan tegangan tinggi dalam bentuk kejutan listrik (waktu aplikasi hanya beberapa mikrodetik) untuk membantu proses ekstraksi, belum dijumpai penggunaan aliran listrik tegangan menengah dan tegangan tinggi (waktu beberapa detik) untuk membantu ekstraksi. Selain itu belum dijumpai penggunaan garam NaCl dalam media *pretreatment* untuk membantu meningkatkan tingkat elektroporasi.

Dari beberapa artikel dalam jurnal belum ditemukan penggunaan listrik tegangan rendah dalam bentuk *Ohmic Heating* digunakan sebagai metode *pretreatment* dalam membantu meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga. Demikian pula penggunaan garam NaCl dalam membantu meningkatkan aliran listrik sehingga meningkatkan tingkat elektroporasi sel.

Pada penelitian ini akan dilakukan pemanfaatan aliran listrik tegangan menengah (<35 kV) sebagai metode *pretreatment* untuk membantu merusak membran sel mikroalga. Selain itu juga digunakan larutan garam NaCl dengan tingkat konsentrasi yang berbeda untuk meningkatkan konduktivitas larutan. Dengan merusak membran sel diharapkan akan mempermudah pengeluaran minyak. Pengeluaran minyak dilanjutkan dengan menggunakan pelarut kimia dalam bentuk ekstraksi pelarut metode Soxhlet.

Pada penelitian ini juga memanfaatkan aliran listrik tegangan rendah (<1000 V) (SNI 04-0225-2000) dalam bentuk *Ohmic Heating* untuk membantu meningkatkan hasil ekstraksi. Peningkatan kerusakan membran sel dilakukan dengan penggunaan larutan garam NaCl pada tingkat konsentrasi yang berbeda. Penelitian ini mengkaji efektifitas penggunaan listrik tegangan menengah maupun tegangan rendah sebagai proses *pretreatment* dalam meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana cara *pretreatment* dengan memanfaatkan aliran listrik tegangan menengah (*medium voltage*) dan listrik tegangan rendah (*low voltage*) agar ekstraksi minyak mikroalga sebagai bahan baku biodiesel meningkat.
2. Berapa besarnya energi *pretreatment* menggunakan tegangan menengah dan tegangan rendah.

3. Asam lemak apa saja yang terkandung dalam minyak mikroalga *Nannochloropsis* sp.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian bertujuan untuk :

1. Mendapatkan metode *pretreatment* menggunakan aliran listrik untuk meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga sebagai bahan baku biodiesel.
2. Menentukan energi *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah dan listrik tegangan rendah dalam membantu meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga.
3. Menentukan asam lemak yang terkandung dalam minyak mikroalga *Nannochloropsis* sp.

1.4 Manfaat penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian adalah penggunaan tegangan listrik dilanjutkan dengan ekstraksi pelarut bisa digunakan sebagai salah satu metode dalam proses ekstraksi minyak mikroalga.

1.5 Batasan Penelitian

1. Hanya menggunakan satu macam bahan baku yaitu pasta mikroalga *Nannochloropsis* sp yang dibudidayakan pada kolam terbuka.
2. Tidak meneliti cara panen dan umur panen mikroalga.
3. Tidak meneliti frekuensi pada alat pembangkit listrik.
4. Tidak mengukur kerusakan sel akibat paparan listrik.
5. Tidak meneliti pengaruh panas terhadap hasil ekstraksi.
6. Tidak meneliti minyak yang larut dalam larutan akibat elektroporasi.
7. Tidak meneliti asam lemak bebas (FFA) akibat perlakuan.
8. Tidak mengkonversi minyak menjadi biodiesel.
9. Hanya menggunakan satu metode ekstraksi pelarut yaitu *Soxhlet*.
10. Hanya menggunakan satu jenis pelarut yaitu n-heksan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

Organisme alga terdiri atas makroalga dan mikroalga yang berfotosintesis, tumbuh di lingkungan perairan. Makroalga disebut juga rumput laut adalah tanaman multisel yang tumbuh di air garam dan air tawar. Mereka sering tumbuh cepat dan bisa mencapai ukuran panjang hingga 60 m (McHugh, 2003). Makroalga diklasifikasikan menjadi tiga kelompok besar berdasarkan pigmentasinya yaitu: (1) rumput laut coklat (*Phaeophyceae*), (2) rumput laut merah (*Rhodophyceae*), dan (3) rumput laut hijau (*Chlorophyceae*) (Demirbas, 2010).

Mikroalga adalah organisme mikroskopis fotosintetik yang ditemukan pada lingkungan perairan laut dan lingkungan air tawar, berukuran diameter 3-30 μm (Carlsson *et al.*, 2007). Ahli biologi telah mengkategorikan mikroalga menjadi beberapa kelas, terutama dibedakan oleh pigmentasinya, siklus hidup, dan struktur dasar sel. Tiga kelas mikroalga yang paling penting dalam hal kelimpahannya adalah diatom (*Bacillariophyceae*), ganggang hijau (*Chlorophyta*), dan ganggang emas (*Chrysophyta*). *Cyanobacteria* (alga biru-hijau) atau *Cyanophyceae* juga disebut sebagai mikroalga. Hal ini berlaku, misalnya, untuk *Spirulina* (*Arthrospira platensis* dan *A. maxima*). Diatom adalah bentuk kehidupan yang dominan dari fitoplankton dan mungkin merupakan kelompok terbesar dari produsen biomassa di bumi (Demirbas, 2010).

Mikroalga termasuk organisme primitif dengan struktur selular sederhana, rasio yang besar antara permukaan terhadap volume tubuh sehingga memberikan kemampuan untuk penyerapan nutrisi dalam jumlah besar (Sheehan *et al.*, 1998). Mekanisme fotosintesis mikroalga mirip dengan tanaman darat, namun karena struktur selular yang sederhana dan terendam dalam lingkungan berair sehingga memiliki akses yang efisien terhadap air, CO_2 , dan nutrisi lain. Mikroalga umumnya lebih efisien dalam mengkonversi energi matahari ke biomassa (Carlsson *et al.*, 2007). Media pertumbuhan harus mengandung unsur anorganik yang membantu pembentukan sel alga seperti nitrogen, fosfor, besi, dan silikon (Grobelaar, 2000).

Mikroalga dapat digunakan sebagai pembangkit bioenergi (biodiesel, biometana, biohydrogen), atau gabungan aplikasi untuk produksi biofuel dan mitigasi CO_2 . Mikroalga merupakan pabrik biokimia mini yang tampil lebih efisien

dalam melakukan fotosintesis dari pada tanaman darat dan merupakan pemecah masalah CO₂ yang efisien (Pirt, 1986).

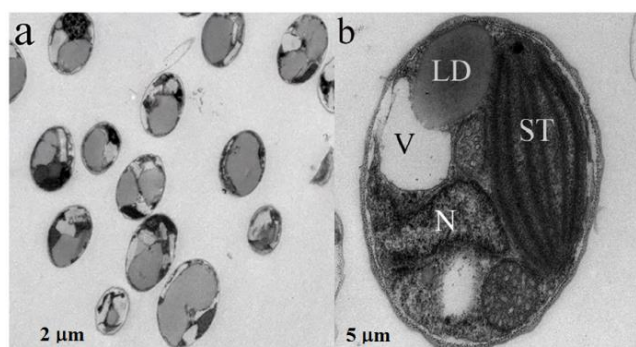
Mikroalga berada di semua ekosistem bumi yang hidup di air laut dan air tawar pada berbagai kondisi lingkungan. Diperkirakan lebih dari 50.000 spesies yang ada tetapi hanya dalam jumlah terbatas sekitar 30.000 telah dipelajari dan dianalisis (Richmond, 2004). Selama dekade terakhir koleksi yang luas dari mikroalga telah dibangun oleh para peneliti di berbagai negara. Koleksi mikroalga air tawar dari Universitas Coimbra (Portugal) dianggap sebagai salah satu yang terbesar di dunia memiliki lebih dari 4.000 jenis dan 1.000 spesies (Mata *et al.*, 2010).

Keuntungan dari penggunaan mikroalga sebagai bahan baku biodiesel telah dilaporkan oleh beberapa peneliti (Sheehan *et al.*, 1998; Tsukahara *et al.*, 2005; Chisti, 2007; Hossain *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; Rosenberg *et al.*, 2008; Schenk *et al.*, 2008; Rodolfi *et al.*, 2009). Perbanyakkan diri mikroalga dilakukan dengan menggunakan fotosintesis untuk mengubah energi matahari menjadi energi kimia dan menyelesaikan siklus pertumbuhan dalam beberapa hari (Sheehan *et al.*, 1998). Mikroalga dapat tumbuh hampir di semua tempat, membutuhkan sinar matahari dan beberapa nutrisi sederhana, tingkat pertumbuhan dapat dipercepat dengan penambahan nutrisi spesifik dan aerasi yang cukup (Pratoomyot *et al.*, 2005; Aslan *et al.*, 2006).

Spesies mikroalga memiliki laju pertumbuhan dan produktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman hutan konvensional, tanaman pertanian, tanaman air dan tanaman lainnya. Mikroalga membutuhkan sedikit lahan hingga 49-132 kali lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman kedelai untuk kandungan minyak 30% (b/b) (Chisti, 2007) sehingga persaingan lahan dengan tanaman lain khususnya untuk konsumsi manusia sangat berkurang (Mata *et al.*, 2010). Kandungan minyak nabati dalam mikroalga dapat mencapai 60% (Sheehan *et al.*, 1998).

Mikroalga memiliki potensi sebagai bahan baku energi terbarukan karena memiliki produktivitas yang tinggi dibandingkan tanaman lain. Mikroalga mampu mengoptimalkan sinar matahari dalam proses fotosintesis, walaupun sinar matahari terhalang oleh permukaan air (Briggs, 2004). Tiap hektar budidaya alga di perairan dapat menghasilkan lebih dari 10-100 kali minyak dibandingkan dengan tanaman penghasil minyak lainnya (Demirbas, 2010). Kandungan

minyak mikroalga terdapat dalam membran sel diluar inti seperti terlihat pada Gambar 2.1.



Keterangan : LD=*lipid droplet*; V=*Vacuoles*; ST=*stacks thylakoids*; N=*nucleus*

Gambar 2.1 Minyak dalam sel mikroalga
(Sumber : Ma *et al.*, 2016)

Tabel 2.1 Perbandingan produksi minyak dan biodiesel beberapa tanaman

Sumber tanaman	Kandungan minyak (% berat minyak dalam biomassa)	Hasil minyak (L/ha/tahun)	Penggunaan lahan (m ² /tahun/kg biodiesel)	Produksi Biodiesel (kg/ha/tahun)
Jagung (<i>Zea mays</i> L.)	44	172	66,0	152
Hemp (<i>Cannabis sativa</i> L.)	33	363	31,0	321
Kedelai (<i>Glycine max</i> L.)	18	636	18,0	562
Jarak (<i>Jatropha curcas</i> L.)	28	741	15,0	656
Camelina (<i>Camelina sativa</i> L.)	42	915	12,0	809
Canola (<i>Brassica napus</i> L.)	41	974	12,0	862
Sun flower (<i>Helianthus annuus</i> L.)	40	1.070	11,0	946
Castor (<i>Ricinus communis</i>)	48	1.307	9,0	1.156
Kelapa sawit (<i>Elaeis guineensis</i>)	36	5.366	2,0	4.747
Mikroalga (<i>low oil content</i>)	30	58.700	0,2	51.927
Mikroalga (<i>medium oil content</i>)	50	97.800	0,1	86.515
Mikroalga (<i>high oil content</i>)	70	136.900	0,1	121.104

Sumber : Mata *et al.*, 2010

Tabel 2.1 menyajikan perbandingan beberapa tanaman penghasil minyak sebagai bahan baku biodiesel (Hili *et al.*, 1984; Rathbauer *et al.*, 2002; Zappi *et al.*, 2003; Callaway, 2004; Kulay *et al.*, 2005; Chisti, 2007; Teixeira *et al.*, 2007; Vollmann *et al.*, 2007; Kheira *et al.*, 2008; Nielsen, 2008; Peterson *et al.*, 1998). Pada Tabel 2.2 menyajikan kandungan minyak yang dihasilkan dari beberapa spesies mikroalga (Chisti, 2007; Mata *et al.*, 2010; John *et al.*, 2011).

Tabel 2.2 Kandungan minyak dari beberapa spesies mikroalga

Mikroalga	Kandungan minyak (% berat kering)
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlorella</i> sp.	28–32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16–37
<i>Dunaliella bioculata</i>	8
<i>Dunaliella salina</i>	14–20
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris</i> sp.	20–35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31–68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–65
<i>Nitzschia</i> sp.	45–47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20–30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50–77
<i>Scenedesmus obliquus</i>	35–55
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	16–40
<i>Spirulina maxima</i>	4–9
<i>Tetraselmis sueica</i>	15–23

Sumber : Chisti, 2007

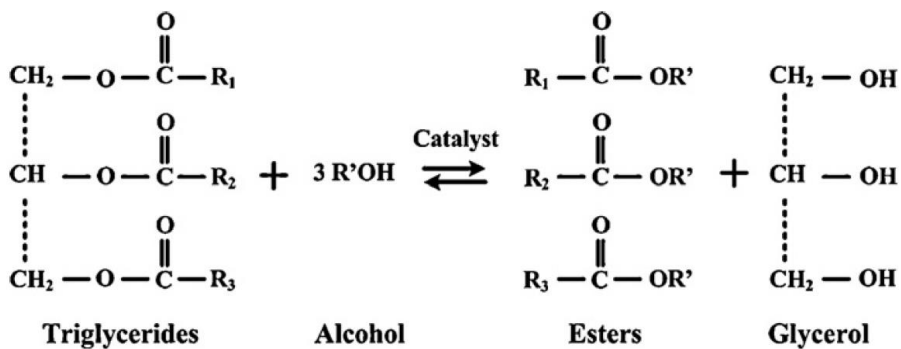
2.2 Biodiesel

Biodiesel merupakan bahan bakar yang diperoleh dari minyak tumbuhan, lemak binatang atau minyak bekas melalui reaksi trans atau esterifikasi dengan alkohol (methanol atau ethanol) (Ozgul *et al.*, 1993; Bozbas, 2008). Bahan baku minyak disusun oleh 90% - 98% (berat) dari trigliserida dan sejumlah kecil mono dan digliserida asam lemak bebas (1% - 5%), dan jumlah residu fosfolipid, fosfatida, karoten, tokoferol, sulfur senyawa, dan air (Bozbas, 2008). Biodiesel terdiri dari monoalkyl ester yang dapat terbakar dengan bersih. Biodiesel digolongkan sebagai bahan bakar yang dapat diperbarui karena bahan bakunya berasal dari minyak tumbuhan atau lemak hewan (Knothe, 2005).

Pembuatan biodiesel memerlukan bahan baku minyak dan alkohol (metanol atau etanol) dengan jumlah sekitar 10% dari campuran (Briggs, 2004). Kegunaan alkohol untuk menurunkan viskositas minyak nabati dengan proses esterifikasi, sehingga biodiesel mempunyai sifat-sifat yang mirip dengan minyak diesel (Rahman, 1995).

Transesterifikasi merupakan reaksi beberapa langkah, termasuk tiga langkah seri *reversible*, dimana trigliserida dikonversi ke digliserida, kemudian digliserida dikonversi ke monogliserida, dan monogliserida kemudian dikonversi ke ester (biodiesel) dan gliserol (produk samping). Reaksi transesterifikasi keseluruhan dijelaskan pada Gambar 2.2 dimana radikal R1, R2, R3 mewakili

rantai panjang hidrokarbon, yang dikenal sebagai asam lemak (Mata *et al.*, 2010).



Gambar 2.2 Reaksi transesterifikasi trigliserida secara keseluruhan (Sumber: Mata *et al.*, 2010)

Reaksi transesterifikasi minyak atau lemak dan alkohol rantai pendek (biasanya metanol) digunakan sebagai reagen dalam katalis (biasanya NaOH). Meskipun perbandingan molar teoritis alkohol : minyak rasio 3:1, rasio molar 6:1 umumnya digunakan untuk menyelesaikan reaksi secara akurat. Hubungan antara massa bahan baku input dan output massa biodiesel adalah sekitar 1:1, yang berarti bahwa secara teoritis, 1 kg minyak menghasilkan sekitar 1 kg biodiesel (Mata *et al.*, 2010).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, ketebalan sel tanaman dan hewan berbeda sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harborne, 1987).

Mikroalga merupakan tumbuhan bersel satu yang memiliki kandungan bahan-bahan termasuk lipid. Komposisi lipid dan asam lemak ditentukan oleh spesies. Menurut Mata *et al.* (2010), bahwa lipid yang dihasilkan oleh mikroalga

air tawar dan air laut berkisar antara 4-75%. Lipid yang terdapat dalam mikroalga dibagi menjadi lipid netral dan lipid polar. Lipid netral terdapat dalam sel dalam bentuk granul sebagai sumber energi sedangkan lipid polar terdapat pada membran sel. Lipid netral terdiri atas asam lemak bebas dan *acylglycerols*. Lipid polar terdiri atas *fosfolipid* dan *glikolipid* (Halim *et al.*, 2012).

Mikroalga sebelum digunakan sebagai bahan baku biodiesel harus diekstraksi terlebih dahulu menjadi minyak nabati (Sheehan *et al.*, 1998; Briggs, 2004). Pemilihan metode yang tepat akan dapat meningkatkan hasil ekstraksi. Efisiensi ekstraksi dipengaruhi oleh metode yang digunakan untuk merusak membran sel. Dengan sel yang rusak maka lipid yang akan mudah untuk dikeluarkan. Metode untuk mengekstraksi minyak mikroalga dibagi menjadi 2 yaitu secara konvensional dan metode baru. Metode ekstraksi konvensional antara lain *High pressure Homogenizer* (HPH), *Sonication*, *Microwave Assisted Extraction* (MAE), *Osmotic Shock*, *Solvent Extraction*, *Supercritical Fluid Extraction*, *Enzymatic*. Metode baru menggunakan konsep elektroporasi dan reaksi fenton (Joannes *et al.*, 2015). Ringkasan metode ekstraksi mikroalga seperti pada Lampiran 1.

High pressure Homogenizer (HPH) merupakan metode perusakan sel secara mekanis dengan tekanan tinggi menggunakan *Homogenization Nozzle*. Metode ini menghancurkan dinding sel mikroalga dengan cara memompanya melewati lubang sempit bertekanan tinggi sekitar 2-45 kPsi menghasilkan sampel dalam jet kecepatan tinggi (Samarasinghe *et al.*, 2012). Salah satu keuntungan menggunakan HPH adalah kemampuannya untuk memecahkan sel sehingga dapat meningkatkan hasil ekstraksi lipid mikroalga.

Halim *et al.* (2012) menggunakan HPH untuk ekstraksi mikroalga *Chlorococcum* sp. menggunakan tekanan sebesar 12,33 kPsi (850 bar) dengan tingkat kerusakan sel mencapai 73,8% dari sel utuh. Spiden *et al.* (2013) juga melakukan perusakan sel menggunakan tekanan tinggi untuk 3 spesies mikroalga yaitu *Nannochloropsis* sp., *Chlorella* sp. dan *Tetraselmis* sp. Untuk tingkat kerusakan sel mikroalga *Nannochloropsis* sp. sebesar 50% diperlukan tekanan 29 kPsi, sedangkan mikroalga *Chlorella* sp. dengan tekanan 7,38 MPsi dan *Tetraselmis* sp. dengan tekanan 1,17 Mpsi.

Pemanfaatan gelombang ultrasonik untuk meningkatkan ekstraksi adalah karena memiliki kemampuan untuk terjadinya gangguan pada dinding sel dan membran sel akibat efek kavitasi. Lee *et al.* (2012) menjelaskan ada dua jenis

sonicator, yaitu *horn type* dan *bath type*. *Horn type* menggunakan pembangkit piezoelektrik sedangkan *bath type* menggunakan transduser untuk menghasilkan gelombang ultrasonik.

Neto *et al.* (2013), melakukan ekstraksi lipid mikroalga dengan bantuan gelombang ultrasonik dilanjutkan ekstraksi menggunakan pelarut. Penelitian dilakukan menggunakan sonikator *bath type* terhadap 3 spesies mikroalga. Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa lipid yang terekstrak dari *T. fluviatilis* dan *T. pseudonana* memberikan hasil hampir sama yaitu masing-masing 40,3% dan 39,0% dari berat kering. Sedangkan lipid yang terekstrak dari *C. minutissima* memberikan hasil yang lebih rendah yaitu 15,5% berat kering. Penelitian yang hampir sama juga dilakukan oleh Araujo *et al.* (2013) terhadap mikroalga *C. vulgaris* menggunakan sonikator *bath type* dengan frekuensi 40 kHz dan intensitas $2,68 \text{ W/m}^2$ kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi pelarut menggunakan metode Bligh dan Dyer. Lipid hasil ekstraksi sebesar 52,5%.

Ultrasonik juga digunakan untuk meningkatkan ekstraksi karbohidrat dan komponen lain seperti β -karoten. Zhao *et al.* (2013), menggunakan ultrasonik sebagai metode *pretreatment* atau perlakuan pendahuluan untuk meningkatkan ekstraksi karbohidrat. Setelah *pretreatment* dilanjutkan dengan perlakuan hidrolisis. Dey dan Rathod (2013) menggunakan ultrasonik untuk mengekstrak karoten dari mikroalga *Spirulina platensis*.

Microwave memiliki kemampuan untuk mengganggu atau merusak dinding sel mikroalga. Kemampuan tersebut disebabkan gelombang frekuensi tinggi yang dihasilkan untuk memanaskan sampel. Medan elektromagnetik yang dihasilkan mampu menyebabkan ion dalam larutan bergetar dan molekul dipolar berputar (Biller *et al.*, 2013). Penggunaan *microwave* sudah cukup lama dalam 10 tahun terakhir untuk ekstraksi lipid mikroalga (Pasquet *et al.*, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Cheng *et al.* (2013), terhadap mikroalga *C. pyrenoidosa* basah untuk produksi biodiesel secara langsung melalui iradiasi *microwave*. Hampir 77,5% dinding sel *C. pyrenoidosa* hancur. Biodiesel yang dihasilkan dengan metode satu langkah ini mencapai 1,3 kali lebih besar daripada menggunakan pemanasan konvensional dan proses pembuatan biodiesel dua langkah melalui ekstraksi lipid dilanjutkan transesterifikasi secara bertahap. Kemampuan *microwave* untuk merusak dinding sel mikroalga yang tebal dan kaku menyebabkan pelarut mampu menembus dengan mudah ke dalam sel dan mengekstrak lipid.

Penggunaan *osmotic shock* (kejut osmotik) menggunakan glukosa, NaCl dan sorbitol untuk mengganggu dinding sel dari mikroorganisme yang kaku. Sel yang akan dirusak dindingnya diletakkan dalam media tekanan osmotik tinggi untuk membuat sel berada dalam keadaan setimbang. Setelah sel setimbang maka ditambahkan air untuk pengenceran. Pengenceran yang mendadak menyebabkan air memasuki sel dengan cepat sehingga menyebabkan tekanan internal sel meningkat. Sel akan terganggu atau mengalami lisis karena perbedaan tekanan osmotik antara bagian dalam dan bagian luar membran sel (Middelberg, 1995). Kelemahan metode *osmotic shock* adalah memerlukan waktu yang cukup lama (Lee *et al.*, 2010).

Solvent Extraction atau ekstraksi menggunakan pelarut merupakan metode ekstraksi paling umum digunakan untuk ekstraksi lipid mikroalga. Ekstraksi menggunakan pelarut lebih sederhana. Selama ekstraksi lipid terjadi perpindahan massa dari dalam keluar dinding sel mikroalga. Massa di bagian dalam berupa tetesan lipid mikroalga akan diekstraksi oleh sistem pelarut (Iqbal and Theegala, 2013). Metode yang paling populer untuk mengekstrak lipid dari biomassa adalah Folch dan Bligh and Dyer.

Teo and Idris (2011) membandingkan metode ekstraksi pelarut dari Folch, metode Bligh dan Dyer, metode Hara dan Radin, dan metode Chen dengan bantuan microwave terhadap mikroalga *Nannochloropsis* sp. dan *Tetraselmis* sp. Campuran yang digunakan untuk metode Bligh dan Dyer adalah kloroform, metanol dan air, sedangkan metode Chen menggunakan metanol dan diklorometana. Pelarut yang digunakan metode Folch adalah sama seperti metode Bligh dan Dyer tetapi tidak menggunakan air. Pelarut yang digunakan metode Hara dan Radin adalah isopropanol dan heksana. Dari beberapa metode tersebut menunjukkan bahwa metode Hara dan Radin adalah metode yang terbaik untuk mengekstrak lipid *Tetraselmis* sp. dengan rendemen 8,19% sedangkan untuk lipid *Nannochloropsis* sp. metode yang terbaik adalah metode Folch dengan rendemen 8,47%. Metode ekstraksi yang berbeda dan spesies mikrolaga yang berbeda akan memberikan respon terhadap rendemen lipid yang dihasilkan.

Metode lain yang biasa digunakan untuk ekstraksi lipid mikroalga adalah metode *Soxhlet*. Metode ekstraksi *Soxhlet* memiliki kelebihan yaitu pengoperasiannya sangat sederhana, relatif aman dari segi keselamatan dan memiliki potensi untuk skala besar. Menurut Luque de Castro and Garcia-Ayuso

(1998) bahwa metode ekstraksi *Soxhlet* memiliki keuntungan antara lain : (1) perpindahan keseimbangan transfer berulang kali membawa pelarut segar kontak dengan bahan yang diekstrak (2) mempertahankan suhu ekstraksi yang relatif tinggi dengan panas dari tabung distilasi (3) tidak membutuhkan penyaringan, sangat sederhana dan murah. Selain keuntungan metode ini memiliki kelemahan yaitu (1) memerlukan waktu yang lama (2) memerlukan jumlah pelarut yang besar (3) tidak dapat dilakukan pengadukan (4) memerlukan prosedur penguapan untuk jumlah pelarut yang besar dan (5) kemungkinan dekomposisi termal senyawa

Ramluckan *et al.* (2014) melakukan ekstraksi terhadap mikroalga *Chlorella* sp menggunakan metode *Soxhlet* dengan menggunakan 13 macam pelarut yang digunakan secara tunggal maupun campuran. Hasil analisis menunjukkan bahwa secara umum pelarut etanol, kloroform dan heksana lebih efisien dalam ekstraksi lipid daripada pelarut lain yang diteliti dan menghasilkan lipid lebih dari 10%. Peralta-Ruiz *et al.* (2013), mengatakan bahwa penggunaan sistem ekstraksi minyak berbasis heksana untuk produksi biodiesel skala besar menggunakan alga terbukti paling sesuai menurut analisis energi, seperti biaya rendah, lebih sederhana dan konsumsi energi yang rendah.

CO₂ superkritis termasuk metode ekstraksi dengan efisiensi tinggi. Gas CO₂ yang dipanaskan dan diberikan tekanan pada titik kritisnya maka sifat fisiknya akan berubah. Kondisi yang demikian disebut cairan superkritis. Fase gas dan fase cair berdampingan dan memperoleh daya kelarutan cairan dan difusivitas gas. Penggunaan metode ekstraksi CO₂ superkritis memberikan hasil berkualitas tinggi. Senyawa yang diekstraksi tidak terkontaminasi dan berubah. Keuntungan lainnya adalah pelarut ramah lingkungan, tidak bersifat racun dan tidak mudah terbakar (Suali and Sarbatly, 2012).

Penelitian Cheng (2011) menggunakan CO₂ superkritis untuk mengekstraksi mikroalga *Pavlova* sp selama 6 jam dengan tekanan 306 bar, suhu 60 °C. Sebelum perlakuan superkritis dilakukan *pretreatment* menggunakan *bead beating* untuk merusak dinding sel. Hasilnya menunjukkan bahwa FAME mencapai 98,7% dibandingkan ekstraksi superkritis saja. Samarasinghe *et al.* (2012), menyatakan bahwa untuk memperoleh hasil yang tinggi maka sampel yang akan diekstraksi menggunakan CO₂ superkritis harus diberi *pretreatment*. Hal ini akan meningkatkan biaya untuk diproses. Metode ekstraksi CO₂

superkritik sangat memakan waktu, intensif energi dan tidak cocok untuk produksi skala besar.

Enzim memiliki kemampuan untuk merusak atau mendegradasi dinding sel mikroorganisme. Kemampuan ini bisa digunakan untuk ekstraksi. Horst *et al.* (2012), melakukan penelitian terhadap kemampuan enzim dalam mendegradasi dinding sel. Variasi enzim dipelajari seperti *viscozyme*, *driselase*, papain mentah, lipase dari *Rhizomucor miehei* dan *Proteinase K*. pada degradasi dinding sel mikroalga *P. tricornutum*, *T. pseudonana*, dan *N. oculata*. Hasilnya menunjukkan bahwa enzim *viscozyme*, *Proteinase K* dan papain mentah cocok untuk mikroalga *P. tricornutum*, untuk *T. pseudonana* menggunakan *Proteinase K*. dan papain mentah, sedangkan sel *N. oculata* paling sesuai dengan *viscozyme* dan *Proteinase K*. Penggunaan enzim sangat spesifik terhadap mikroalga tertentu karena spesies mikroalga yang berbeda memiliki komposisi dinding sel yang berbeda. Oleh karena itu, penggunaan enzim masih belum layak digunakan untuk skala komersial.

Metode ekstraksi yang telah diuraikan pada tulisan di atas adalah metode ekstraksi konvensional. Selain metode konvensional, ada metode ekstraksi modern yaitu menggunakan konsep elektroporasi dan reaksi fenton.

2.4 Elektroporasi

Elektroporasi adalah metode permeabilisasi membran sel yang saat ini banyak digunakan dalam bioteknologi dan kedokteran untuk pengiriman obat dan gen ke dalam sel-sel hidup (Fromm *et al.*, 1985; Teissi'e, 1998; Prud'homme *et al.*, 2006). Elektroporasi juga merupakan metode alternatif untuk sterilisasi air dan pengawetan makanan (Teissi'e *et al.*, 2002).

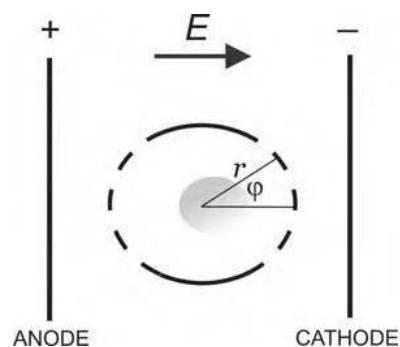
Fenomena elektroporasi dapat digambarkan sebagai peningkatan dramatis pada permeabilitas membran yang disebabkan oleh penerapan pulsa listrik eksternal pendek dan kuat. Berbagai model teoritis dikembangkan untuk menggambarkan elektroporasi, diantaranya model *transient aqueous pore* yang paling luas diterima. Menurut model ini, pori-pori hidrofilik terbentuk di lapisan ganda lipid dari sel membran bila terkena pulsa listrik eksternal. Dalam membran sel, pori-pori hidrofobik dibentuk oleh fluktuasi termal spontan membran lipid. Pada sel yang terkena medan listrik eksternal, kehadiran potensial induksi transmembran memberikan energi bebas yang diperlukan untuk penyusunan

ulang struktur dari membran fosfolipid dan dengan demikian memungkinkan pembentukan pori hidrofilik (Tsong, 1991; Chang *et al.*, 1992; Weaver, 2003).

Semua sel-sel hidup baik prokariotik maupun eukariotik mengandung membran sel. Membran tersebut terdiri atas lipid dan protein (Alberts *et al.*, 2002). Elektroporasi dapat terjadi pada membran sel melalui lipid maupun protein. Pembukaan melalui saluran protein tergantung pada potensi listrik trans membran. Potensi kekuatan melalui saluran protein lebih rendah (kisaran 50 mV). Dengan demikian, bisa diharapkan bahwa ketika penerapan listrik, banyak saluran protein sensitif tegangan akan terbuka sebelum pemecahan lipid bilayer.

Elektroporasi terjadi karena kekuatan dielektrik yang dimiliki oleh membran sel terlampaui oleh pengaruh medan listrik dari luar. Kekuatan dielektrik dari membran sel berkaitan dengan jumlah lipid (bertindak sebagai insulator) dalam membran itu sendiri. Pori-pori yang terbentuk dapat bervariasi dalam ukuran tergantung pada kekuatan medan listrik dan dapat *reseal* (menutup kembali) setelah periode waktu yang singkat. Paparan berlebihan menyebabkan kematian sel akibat kebocoran komponen intraseluler melalui pori-pori. Elektroporasi sangat merusak sel dan akan meningkatkan efek mematikan dengan adanya panas dari pemanasan ohmik (Lee and Yoon, 1999).

Elektroporasi dapat bersifat *reversible* atau *irreversible*, tergantung pada parameter dari pulsa listrik. Tegangan transmembran induksi yang dikenakan oleh medan listrik eksternal harus mencapai nilai kritis untuk memicu pembentukan pori-pori sementara dalam membran sel. Potensial ambang batas membran yang perlu dicapai dalam membran sel adalah antara 200 mV dan 1 V (Zimmermann, 1982; Tsong, 1991; Teissi'e and Rols, 1993). Untuk reversibilitas elektroporasi, potensial membran harus terus di bawah nilai kritis. Dalam kondisi seperti itu, membran sel pulih setelah aplikasi pulsa listrik (Neumann *et al.*, 1989). Sebaliknya, jika nilai kritis terlampaui terjadi elektroporasi *irreversible* yang mengakibatkan disintegrasi membran sel dan hilangnya viabilitas sel (Meakin *et al.*, 1995; Danfelter *et al.*, 1998). Skema elektroporasi sel dalam pengaruh medan listrik seperti pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Skema elektroporasi sel dalam medan listrik
(Sumber: Kanduser M and Damijan M, 2008)

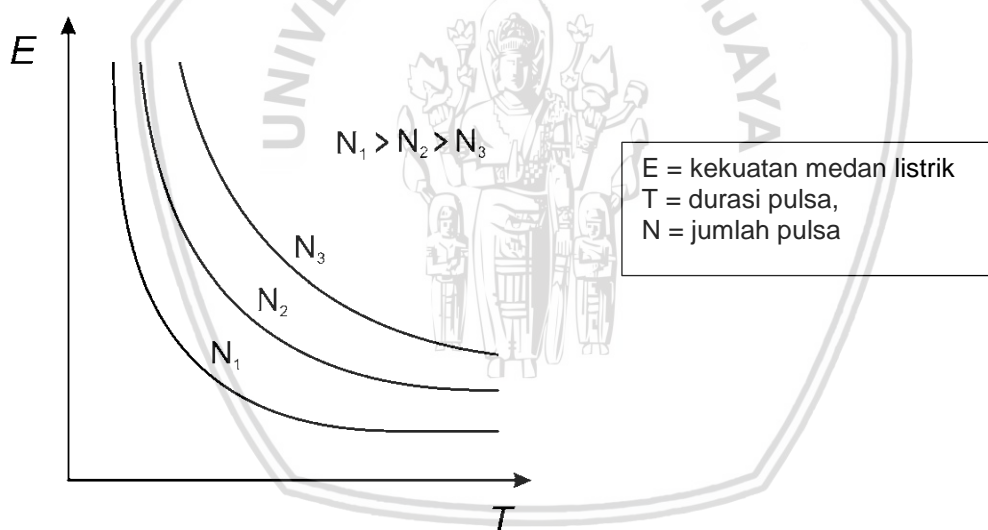
Proses elektroporasi terdiri dari fase yang berbeda. Pertama adalah pembentukan pori yang merupakan respon membran sel terhadap ambang induksi potensial membran dan berlangsung beberapa mikrodetik. Tahap kedua adalah tergantung waktu perluasan ukuran pori dalam rentang waktu ratusan mikrodetik sampai milidetik dan berlangsung sepanjang durasi pulsa. Tahap terakhir adalah pemulihan membran yang berlangsung setelah aplikasi pulsa listrik terdiri dari penutupan (*resealing*) pori dan berlangsung beberapa menit (Hibino *et al.*, 1993; Neumann *et al.*, 1999; Leontiadou *et al.*, 2004).

Fase pertama elektroporasi dapat diukur melalui perubahan konduktivitas membran dan terkait dengan pembentukan pori sementara berumur pendek yang tidak memberikan kontribusi untuk transportasi molekul (Pavlin *et al.*, 2007). Transportasi molekul melintasi membran sel permeabel berhubungan dengan elektroporasi yang diamati dari fase pembentukan pori-pori sampai penutupan membran selesai (Prausnitz *et al.*, 1995; Pavlin *et al.*, 2007).

Elektroporasi dipengaruhi parameter pulsa listrik dan komposisi kimia dari media yang digunakan dan di sisi lain dipengaruhi karakteristik sel yang terkena medan listrik. Parameter pulsa listrik yang paling penting adalah amplitudo/tegangan, durasi, jumlah, dan frekuensi pengulangan (Gabriel and Teissi'e, 1995; Vernhes *et al.*, 1999; Bilska *et al.*, 2000; Canatella *et al.*, 2001; Macek-Lebar and Miklavcic, 2001). Jika parameter melebihi nilai optimal maka terjadi elektroporasi *irreversible* karena disintegrasi membran sel (Danfelter *et al.*, 1998) mengakibatkan lisis sel. Pilihan parameter pulsa listrik tergantung pada aplikasi yang diinginkan. Beberapa aplikasi memerlukan *reversible* sementara yang lainnya memerlukan elektroporasi *irreversible*.

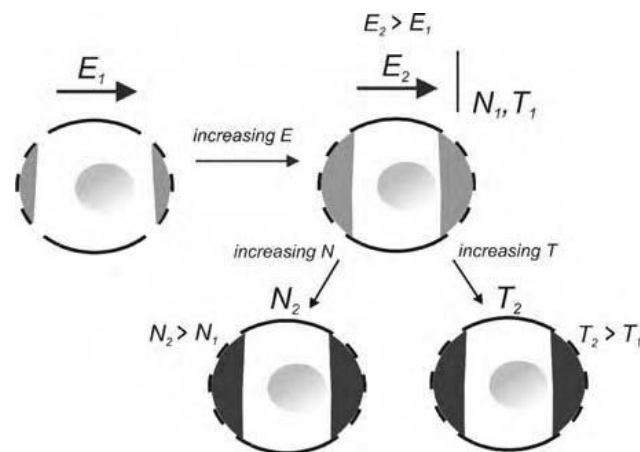
Selain parameter pulsa listrik yang telah disebutkan, bentuk pulsa yang berbeda juga dapat digunakan. Bentuk pulsa eksponensial dan gelombang persegi yang paling sering digunakan. Harus berhati-hati ketika membandingkan hasil yang diperoleh pulsa yang berbeda bentuk, sebagai proses polarisasi membran yang berlangsung selama penerapan pulsa berbeda (Neumann, 1992).

Penerapan pulsa pada molekul kecil umumnya menggunakan pulsa listrik pendek dalam kisaran puluhan sampai ratusan mikrodetik. Parameter yang paling penting adalah amplitudo pulsa. Nilai ini harus mencapai ambang dimana elektroporasi dari membran sel dipicu. Di bawah nilai ambang batas, kenaikan elektroporasi diperoleh dengan peningkatan durasi pulsa dan jumlah pulsa (Gambar 2.4). Peningkatan durasi pulsa meningkatkan elektroporasi sel sampai kondisi stabil tercapai dan peningkatan lebih lanjut dalam jumlah pulsa atau durasi tidak mempengaruhi sel elektroporasi (Rols and Teissi'e, 1990; Macek-Lebar and Miklavcic, 2001).



Gambar 2.4 Pengaruh kekuatan listrik, durasi pulsa dan jumlah pulsa terhadap tingkat elektroporasi.
(Sumber: Kanduser M and Damijan M, 2008)

Peningkatan amplitudo pulsa menghasilkan area elektroporasi membran lebih besar dengan tingkat elektroporasi lebih kecil, sementara peningkatan jumlah pulsa atau durasi tidak mempengaruhi area membran elektroporasi tetapi meningkatkan tingkat elektroporasi (Gambar 2.5) (Rols, 2006). Namun ketika meningkatkan durasi pulsa juga harus mempertimbangkan terjadinya pemanasan ohmik secara signifikan dari sampel (Pliquett *et al.*, 1996).



Gambar 2.5 Pengaruh amplitudo pulsa dan jumlah pulsa terhadap tingkat Elektroporasi
(Sumber : Kanduser M and Damijan M, 2008)

2.5 Kejut listrik tegangan menengah dan tegangan tinggi

Sistem kejut listrik tegangan menengah dan tegangan tinggi secara umum terdiri atas sumber tegangan listrik, kapasitor penyimpanan, resistor pembatas arus, dan *switch* tegangan tinggi, dan perangkat pendingin. Pada sistem kontinu diperlukan pompa untuk memindahkan bahan cair dari tangki penampung ke ruang *treatment* dan dari ruang *treatment* ke tangki hasil. Cara kerja kejut listrik tegangan menengah dan tegangan tinggi adalah kapasitor diisi dengan arus listrik dan *switch* digunakan untuk menguras arus listrik dan meneruskannya ke bahan yang akan diberi perlakuan. Pada sistem kontinu ditambahkan sebuah pompa yang digunakan untuk menyalurkan bahan ke ruang *treatment*. Sistem pendingin diperlukan untuk mengurangi efek pemanasan ohmik dan mengontrol suhu bahan selama *treatment*. Pengukur tegangan dan arus untuk mengukur tegangan dan arus yang dikirim ke ruang *treatment* (Barbosa-Canovas *et al.*, 1999; Amiali *et al.*, 2006; Flourey *et al.*, 2006).

Pengolahan bahan menggunakan kejut listrik melibatkan ledakan singkat listrik yang diletakkan diantara dua elektroda (Qin *et al.*, 1995). Menurut Barbosa-Canovas *et al.*, (1999), kekuatan medan listrik rata-rata yang dihasilkan adalah:

$$E = \frac{V}{d} \dots\dots\dots (1)$$

dimana :

E = kuat medan listrik (V/cm)

V = tegangan listrik (V)

d = jarak elektroda (cm)

Efek utama dari penerapaaan tegangan pada jaringan atau sel biologi adalah pembentukan pori (elektroporasi) pada membran sel. Proses elektroporasi melibatkan penyusunan kembali secara cepat struktur membran sebagai respon penerapaaan medan listrik yang kuat. Proses selanjutnya adalah elektroporasi *irreversible* sehingga mudah terjadi elektropasmolisis pada sel biologi (Barbosa-Canovas *et al.*, 1999).

Teknologi kejut listrik tegangan menengah dan tegangan tinggi berfokus pada kemampuannya untuk inaktivasi bakteri pada bahan makanan cair sebagai cara pengawetan. Namun selain sebagai cara pengawetan, kejut listrik juga digunakan untuk bidang-bidang lain yaitu peningkatan ekstraksi metabolit intraseluler, peningkatan efisiensi pengeringan, modifikasi aktivitas enzimatik, pengawetan produk makanan padat dan semi-padat, dekontaminasi limbah cair, dan modifikasi sifat fungsional makanan.

Penerapan kejut listrik pada sel makhluk hidup termasuk hewan dan tumbuhan akan sama seperti yang terjadi pada sel bakteri. Pori-pori yang terbentuk pada membran sel akan meningkatkan perpindahan massa keluar dari sel. Ukuran sel hewan dan tumbuhan yang lebih besar dibandingkan dengan sel bakteri membuat lebih mudah untuk menginduksi transmembran. Permeabilisasi membran dan intensitas medan listrik yang digunakan lebih rendah untuk permeabilisasi membran sel dan menghasilkan konsumsi energi yang lebih rendah (6-10 J/g) (Knorr *et al.*, 2001).

Permeabilisasi sel dapat digunakan untuk meningkatkan hasil jus buah, peningkatan ekstraksi metabolisme intraseluler seperti pigmen atau flavor dan peningkatan efisiensi proses ekstraksi seperti ekstraksi gula bit (Brodellius *et al.*, 1988; Knorr *et al.*, 1998; Bouzrara *et al.*, 2003). Ekstraksi gula bit dengan bantuan kejut listrik menggunakan kuat medan listrik 1,2-2,5 kV/cm dapat meningkatkan konsentrasi padatan dua kali lipat dalam ekstrak yang diperoleh dibandingkan dengan metode tradisional serta mengurangi biaya untuk pengeringan ekstrak (Eshtiaghi *et al.*, 2002). Ekstraksi jus apel dari apel tumbuk

menggunakan kejut listrik dapat meningkatkan hasil 67%-73% dan menghasilkan warna yang lebih jelas (Barsotti *et al.*, 1999).

Ekstraksi jus buah dengan bantuan kejut listrik terbukti memberikan hasil yang sama dengan proses ekstraksi komersial menggunakan enzim. Penggunaan kejut listrik menghasilkan proses kontinyu yang lebih cepat dengan produk mirip produk segar daripada ekstraksi produk dengan bantuan enzim (Eshtiaghi *et al.*, 2002). Penggunaan kejut listrik dapat memperbaiki proses ekstraksi dan menjaga karakteristik alami terhadap produk yang sensitip terhadap panas dalam buah. Ekstraksi jus wortel meningkat 51-67% dengan menggunakan kejut listrik dibandingkan metode tradisional (Knorr *et al.*, 1998).

2.6 Ohmic Heating

Konsep *Ohmic Heating* bukan hal yang baru. Awal abad 20 *Ohmic Heating* telah digunakan untuk pasteurisasi susu dan bahan makanan. Proses pasteurisasi dengan cara melewati bahan diantara 2 plat yang memiliki perbedaan tegangan (De Alwis and Fryer, 1990; Palaniappan *et al.*, 1991). *Ohmic Heating* adalah proses pemanasan bahan pangan dengan cara mengalirkan arus listrik ke bahan. Bahan pangan menjadi panas oleh pembangkitan energi internal tanpa melibatkan pindah panas permukaan (Castro *et al.*, 2003).

Sebagian besar bahan makanan mengandung bahan ion seperti garam dan asam, yang memungkinkan terjadinya aliran arus listrik (Palaniappan *et al.*, 1991). Proses ini dapat digunakan untuk menghasilkan panas dari produk dengan mengubah energi listrik menjadi energi panas secara cepat tanpa perlu media pemanas. Proses ini akan dapat menghindari kerusakan termal yang berlebihan terhadap zat yang labil seperti vitamin dan pigmen (Palaniappan *et al.*, 1991; Sastry and Barach, 2000). Keberhasilan *Ohmic Heating* dalam pemanasan tersebut diaplikasikan pada beberapa proses, termasuk *blanching*, penguapan, dehidrasi, pasteurisasi dan ekstraksi (FDACFSAN, 2000).

Proses ekstraksi telah digunakan untuk meningkatkan efisiensi zat terlarut difusi seluruh membran (efek elektro-osmosis), sehingga menghasilkan kualitas produk yang lebih baik (Boussetta *et al.*, 2009; Donsi *et al.*, 2010; Puertolas *et al.*, 2010). Hasil-hasil penelitian menemukan bahwa *Ohmic Heating* telah terbukti meningkatkan hasil ekstraksi. Beberapa penelitian yang menggunakan *Ohmic Heating* antara ekstraksi pewarna bit dari tanaman bit (Halden *et al.*, 1990;

Schreier *et al.*, 1993), ekstraksi jus apel dari buah apel (Lima *et al.*, 1999), ekstraksi minyak dedak padi dan zat bioaktif dari dedak padi (Lakkakula *et al.*, 2004), ekstraksi polifenol dari anggur merah pomace (Darra *et al.*, 2013) dan ekstraksi pewarna makanan dari bekatul beras hitam (Loypimai *et al.*, 2015).

Ohmic heater atau pemanas ohmik atau disebut juga *joule heater* adalah peralatan yang menggunakan resistensi listrik cairan itu sendiri untuk membangkitkan panas. Panas dihasilkan secara langsung dalam cairan itu sendiri oleh *joule heating*. Akibat arus listrik bolak balik (I) melewati resistensi bahan (R) maka akan menghasilkan pembangkitan energi yang menyebabkan suhu naik (Zell *et al.*, 2009). Skema *Ohmic Heating* seperti pada Gambar 2.6.

Konduktivitas listrik (σ)

Konduktivitas listrik (σ) adalah ukuran dari seberapa baik bahan mengakomodasi pergerakan sebuah muatan listrik yaitu rasio kepadatan arus terhadap kuat medan listrik. Satuan konduktivitas listrik dalam SI Siemens per meter (S/m) (Assiry *et al.*, 2003; Zell *et al.*, 2009; Salengke *et al.*, 2007).

$$\sigma = \frac{L}{A} \times \frac{I}{V} \dots\dots\dots(2)$$

Dengan :

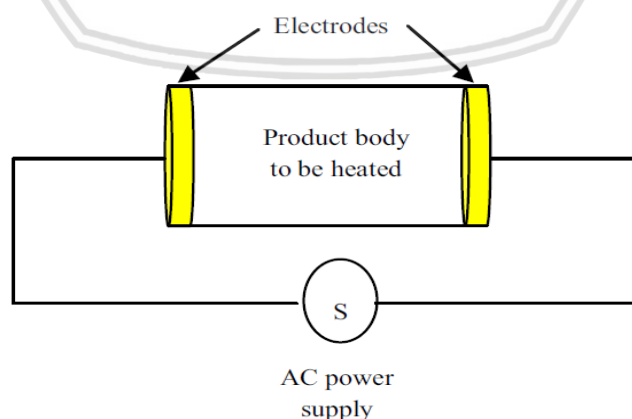
σ = Konduktivitas listrik (S/m)

L = jarak antar elektrode (m)

A = luas area bahan yang akan dipanaskan (m^2)

I = arus listrik (A)

V = Tegangan listrik (V)



Gambar 2.6 Skema *Ohmic Heating*
(Sumber : Sakr, 2014)

Tenaga pemanas

Energi (P) diberikan kepada sistem pemanas *Ohmic* yang ditentukan oleh suhu dihitung dengan menggunakan nilai arus (I) dan tegangan (ΔV) selama waktu pemanasan (ΔT) (Icier, 2005).

$$P = \sum V.I.t \quad \dots\dots\dots (3)$$

Dengan :

P = energi total (kJ)

V = Tegangan listrik (V)

I = arus listrik (A)

t = perubahan waktu (detik)



III. KERANGKA PIKIR PENELITIAN

3.1 Landasan Teori

Biodiesel merupakan bahan bakar sebagai pengganti solar yang dibuat dari minyak nabati maupun hewani melalui proses transesterifikasi. Kualitas biodiesel dari proses transesterifikasi dipengaruhi oleh faktor : perbandingan molar metanol dengan minyak, perbandingan molar katalis terhadap minyak, kandungan asam lemak bebas (FFA) bahan baku, waktu, suhu dan kecepatan pengadukan (Hossain *et al.*, 2010). Canakci and Van Gerpen (2001) menemukan bahwa transesterifikasi tidak akan berlangsung jika kandungan FFA minyak sekitar 3%. Jika FFA melebihi 4%, maka katalis alkali akan bereaksi dengan FFA membentuk sabun yang mengganggu efisiensi reaksi dan menyulitkan pemisahan hasil reaksi. Minyak dengan kandungan FFA tinggi jika digunakan sebagai bahan baku biodiesel harus dimurnikan terlebih dahulu menggunakan proses esterifikasi asam setelah itu dilanjutkan dengan transesterifikasi alkali.

Karakteristik biodiesel dipengaruhi oleh komposisi asam lemak yang akan digunakan sebagai bahan baku biodiesel. Asam lemak yang terkandung dalam bahan baku menentukan karakteristik trigliserida dan bahan bakar biodiesel. Panjang rantai asam lemak dan banyaknya ikatan rangkap akan menentukan sifat fisik antara asam lemak dan trigliserida (Mittelbach dan Remschmidt, 2004). Ada tiga jenis asam lemak yang terdapat dalam trigliserida yaitu jenuh ($C_n: 0$), tidak jenuh tunggal ($C_n: 1$) dan tidak jenuh ganda dengan ikatan rangkap dua atau tiga ($C_n: 2,3$).

Berbagai minyak nabati memiliki potensi untuk dijadikan biodiesel tetapi kualitas bahan bakar dipengaruhi oleh komposisi minyak. Idealnya, minyak nabati harus rendah lemak jenuh (*saturation*) dan rendah lemak tidak jenuh ganda (*polyunsaturated*) yaitu tinggi dalam asam lemak tidak jenuh tunggal (*monounsaturated*). Minyak nabati yang banyak mengandung *polyunsaturated* seperti asam linoleat dan linolenat, misal minyak kedelai, minyak bunga matahari, cenderung menghasilkan biodiesel dengan stabilitas oksidasi yang buruk. Minyak nabati dengan kandungan lemak tidak jenuh tinggi (*unsaturation*) cenderung memiliki titik beku yang tinggi. Minyak seperti ini memiliki sifat aliran yang buruk dan mungkin menjadi padat (misalnya minyak sawit) pada suhu rendah meskipun dapat bekerja secara memuaskan pada iklim panas (Gunstone, 2004).

Stabilitas oksidasi akan meningkat dengan meningkatnya asam lemak jenuh dan menurun akibat asam lemak tak jenuh ganda (Falk, 2004). Selain itu asam lemak juga mempengaruhi viskositas minyak biodiesel (Allen *et al.*, 1999). Semakin panjang rantai asam lemak maka viskositasnya akan semakin besar.

Tahapan pembuatan biodiesel dari mikroalga meliputi tahap kultur mikroalga, tahap panen, tahap ekstraksi dan terakhir adalah tahap esterifikasi. Diantara tahapan tersebut, pengeluaran minyak mikroalga atau ekstraksi merupakan tahapan penting. Pada kasus produksi biodiesel menggunakan mikroalga, sekitar 30-50% biaya diperlukan untuk kegiatan ekstraksi termasuk untuk gangguan sel (*cell disruption*) (Teixeira, 2007). Minyak mikroalga berada di dalam sel berbentuk butiran lipid.

Berbagai metode ekstraksi terus dikembangkan oleh para peneliti untuk meningkatkan hasil ekstraksi, misalnya kimia, mekanik, termal maupun *enzymatic*. Kombinasi ekstraksi menggunakan perusakan sel akan dapat meningkatkan hasil ekstraksi (Lee *et al.*, 2010). Metode untuk mengekstraksi minyak mikroalga dibagi menjadi 2 yaitu metode konvensional dan metode baru (Joannes *et al.*, 2015). Metode ekstraksi konvensional antara lain *High pressure Homogenizer (HPH)* (Halim *et al.*, 2013), *Sonication* (Wang *et al.*, 2014), *Microwave Assisted Extraction (MAE)* (Cheng *et al.*, 2013; Iqbal and Theegala, 2013), *Osmotic Shock* (Lee *et al.*, 2010; Yoo *et al.*, 2012), *Solvent Extraction* (Boyd *et al.*, 2012; Balasubramanian *et al.*, 2013;), *Supercritical Fluid Extraction* (Cheng *et al.*, 2011; Mouahid *et al.*, 2013), *Enzymatic* (Horst *et al.*, 2012; Fu, 2010). Metode baru menggunakan konsep elektroporasi dan reaksi fenton.

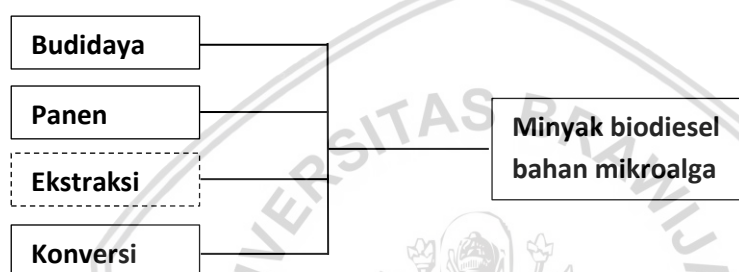
Elektroporasi memberikan peningkatan signifikan dalam konduktivitas listrik dan permeabilitas membran sel yang disebabkan oleh penerapan medan listrik eksternal. Elektroporasi terjadi karena membran sel memiliki kekuatan dielektrik tertentu yang bisa dilampaui oleh medan listrik (Knirsch *et al.*, 2010). Penerapan medan listrik ke sel-sel biologis menyebabkan penumpukan muatan listrik pada membran sel (Schoenbach *et al.*, 1997). Gangguan membran terjadi ketika potensial membran melebihi nilai kritis dari 1 V di banyak sistem selular (Castro *et al.*, 1993).

3.2 Kerangka Konsep dan Hipotesis

Kerangka konsep adalah bagian dari penelitian yang berisi tentang konsep atau teori dalam bentuk kerangka yang mengacu pada masalah yang akan

diteliti. Kerangka konsep terdiri atas variabel dependen (terikat) dan variabel independen (bebas).

Secara umum minyak biodiesel berbahan baku mikroalga dipengaruhi/ditentukan oleh teknik budidaya, metode panen, metode ekstraksi, dan metode konversi minyak menjadi biodiesel (Gambar 3.1). Metode ekstraksi dalam mengeluarkan minyak dari sel ada beberapa macam (Gambar 3.2) yaitu dengan cara *High pressure Homogenizer* (HPH), *Sonication*, *Microwave Assisted Extraction* (MAE), *osmotic shock*, *Solvent Extraction*, *Supercritical Fluid Extraction*, *Enzymatic* dan metode baru menggunakan konsep elektroporasi dan reaksi fenton.



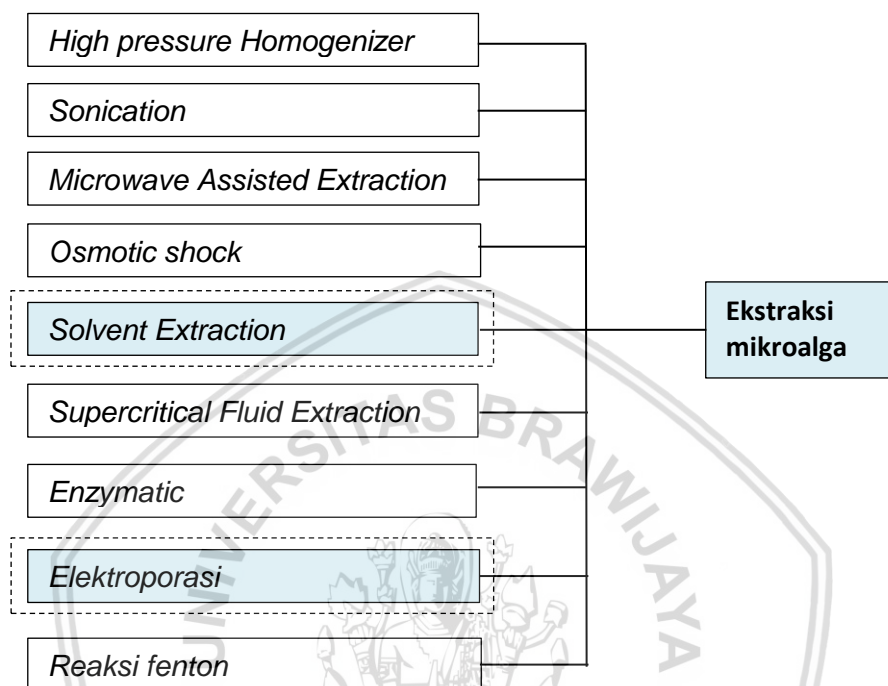
Gambar 3.1 Faktor-faktor yang mempengaruhi minyak biodiesel berbahan baku mikroalga

Beberapa metode di atas ada yang digunakan secara kombinasi untuk meningkatkan hasil ekstraksi. Kombinasi metode baru (elektroporasi) dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut akan dapat meningkatkan hasil ekstraksi. Perlakuan sebelum perlakuan utama diberikan dikenal dengan istilah *pretreatment*. Dalam hal ini kegiatan *pretreatment* adalah elektroporasi.

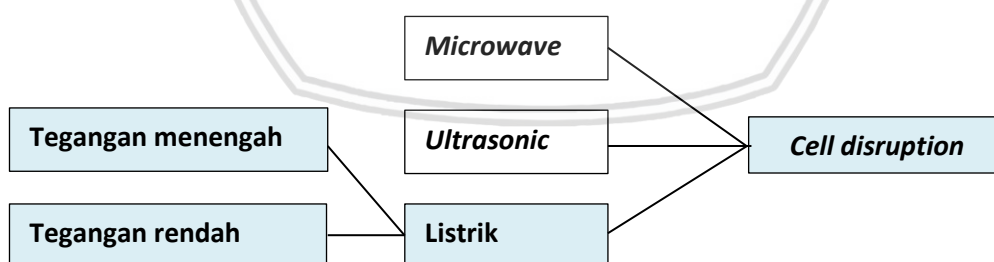
Pretreatment sebelum ekstraksi mikroalga bertujuan untuk membantu mempermudah pengeluaran minyak dalam sel. Perusakan dinding sel dapat dilakukan dengan memberikan aliran listrik. Dengan kondisi membran sel mikroalga yang telah rusak atau berpori maka dilanjutkan ekstraksi menggunakan pelarut kimia. Penggunaan ekstraksi menggunakan pelarut kimia bertujuan untuk mengikat minyak mikroalga yang masih berada dalam sel maupun yang sudah keluar akibat elektroporasi. Pelarut yang digunakan adalah n-heksan karena merupakan pelarut non polar, tidak berbahaya, tidak reaktif, mudah diuapkan dan murah.

Penelitian ini mempelajari pengaruh pemberian aliran listrik terhadap kerusakan membran sel (*cell disruption*) yang dilanjutkan dengan ekstraksi

menggunakan pelarut kimia. Listrik yang digunakan menggunakan tegangan sesuai dengan SNI 04-0225-2000 yaitu tegangan menengah (1-35 kV) dan tegangan rendah (50-1000 V) (Gambar 3.3).



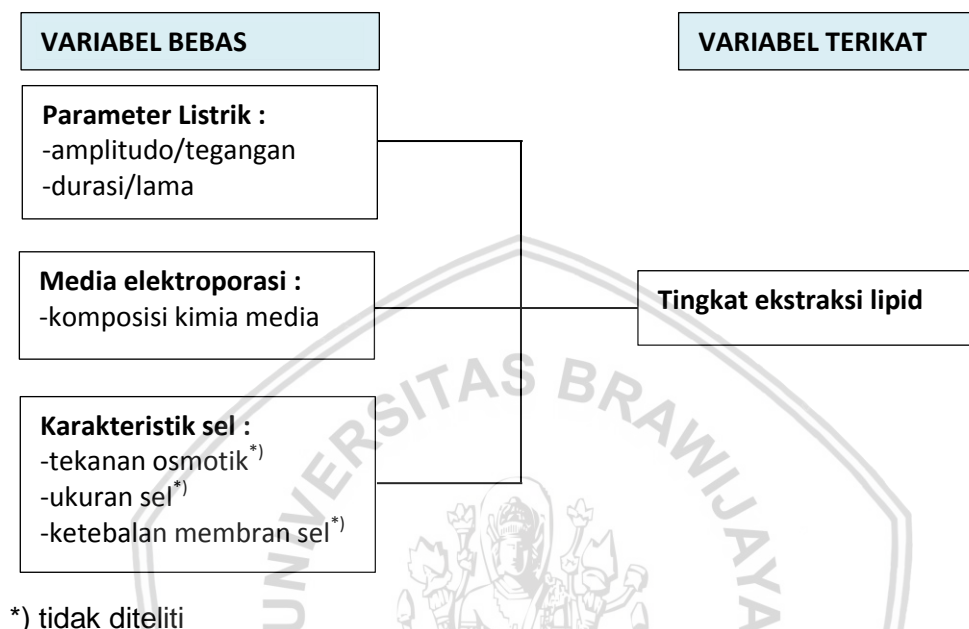
Gambar 3.2 Macam-macam metode ekstraksi mikroalga



Gambar 3.3 Metode *cell disruption* oleh pengaruh luar

Variabel terikat yang digunakan adalah rendemen (hasil) lipid sedangkan variabel bebas adalah parameter listrik (tegangan, durasi/lama), media elektroporasi (komposisi media), karakteristik sel (tekanan osmotik). Variabel bebas yang akan diteliti antara lain pengaruh besarnya tegangan, durasi/lama

pemberian pulsa listrik, dan kandungan garam dalam media elektroporasi sedangkan karakteristik sel berkaitan dengan tekanan osmotik tidak diteliti. Variabel terikat yang akan diteliti adalah tingkat ekstraksi berkaitan dengan rendemen (hasil) lipid yang diperoleh dan komposisi asam lemak setelah ekstraksi. Kerangka konsep penelitian seperti Gambar 3.4.



Gambar 3.4 Kerangka konsep penelitian

Untuk mengetahui kualitas minyak biodiesel yang dihasilkan salah satunya bisa diketahui dari komposisi asam lemak dalam bahan baku. Pada penelitian ini bahan baku yang digunakan adalah mikroalga *Nannochloropsis* sp. Komposisi asam lemak dari mikroalga *Nannochloropsis* sp. diketahui dengan cara melakukan analisa menggunakan GC-MS. Selain komposisi asam lemak, hal lain yang mempengaruhi kualitas biodiesel adalah kandungan asam lemak bebas (FFA). Karena keterbatasan maka pada penelitian ini tidak dilakukan analisa kadar asam lemak bebas (FFA) secara langsung tetapi dilakukan melalui pendekatan teori.

Berdasarkan studi literatur dan percobaan pendahuluan maka hipotesis yang diajukan adalah :

- Ada pengaruh pemberian *pretreatment* dalam proses ekstraksi mikroalga terhadap hasil ekstraksi

- Ada pengaruh besar tegangan terhadap *cell disruption*/gangguan sel penyebab elektroporasi dalam meningkatkan rendemen (hasil) minyak mikroalga
- Ada pengaruh lama paparan medan listrik terhadap *cell disruption* penyebab elektroporasi dalam meningkatkan rendemen (hasil) minyak mikroalga
- Ada pengaruh komposisi media (kadar garam) berkaitan dengan daya hantar listrik terhadap *cell disruption*/kerusakan sel penyebab elektroporasi dalam meningkatkan rendemen (hasil) minyak mikroalga

3.3 Kerangka Analisis

Penggunaan aliran listrik ini dalam bentuk kejut listrik maupun *Ohmic Heating* termasuk cara pengawetan bahan non termal dengan cara merusak sel. Selain digunakan untuk pengawetan aliran listrik juga bisa digunakan untuk proses ekstraksi. Perlakuan pendahuluan menggunakan aliran listrik sebelum ekstraksi akan dapat meningkatkan rendemen.

Aliran listrik yang mengenai sel biologi akan menyebabkan kerusakan sel yaitu terjadinya elektroporasi. Elektroporasi adalah terbentuknya pori-pori pada membran sel yang bersifat *reversible* dan *irreversible*. Pada keadaan *reversible* maka membran akan menutup kembali sedangkan keadaan *irreversible* maka membran akan terbuka dan tidak bisa menutup lagi. Hal ini dipengaruhi oleh suhu, lama paparan, dan besarnya tegangan listrik yang diaplikasikan.

Pada penelitian ini yang dikehendaki adalah membran sel yang bersifat *irreversible* sehingga isi sel akan mudah untuk dikeluarkan. Isi sel yang akan dikeluarkan adalah minyak yang terkandung dalam sel mikroalga. Dengan kondisi sel terbuka maka pada proses ekstraksi selanjutnya akan lebih mudah dan lebih cepat.

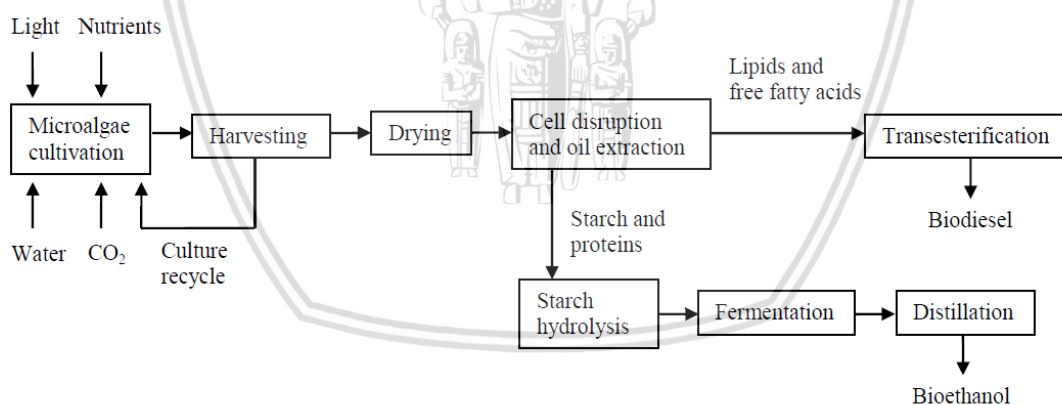
Pada penelitian ini menggunakan 2 cara *pretreatment* yaitu menggunakan listrik tegangan menengah (*medium voltage*) dan listrik tegangan rendah (*low voltage*)/*Ohmic Heating*. Penggunaan listrik tegangan menengah dengan memanfaatkan perbedaan tegangan yang cukup besar sedangkan penggunaan *Ohmic Heating* dengan memanfaatkan aliran listrik dan panas yang ditimbulkan akibat aliran listrik. Kedua cara tersebut dicari manakah yang memberikan hasil lebih baik.

Penggunaan listrik tegangan menengah dan listrik tegangan rendah memiliki persamaan yaitu sama-sama memanfaatkan aliran listrik untuk mempengaruhi membran sel dengan nilai tegangan yang jauh berbeda. Pada aliran listrik tegangan menengah tidak menimbulkan panas yang signifikan karena arus listriknya sangat kecil sedangkan pada penggunaan listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) akan terjadi kenaikan suhu karena aliran arus listrik yang cukup besar.

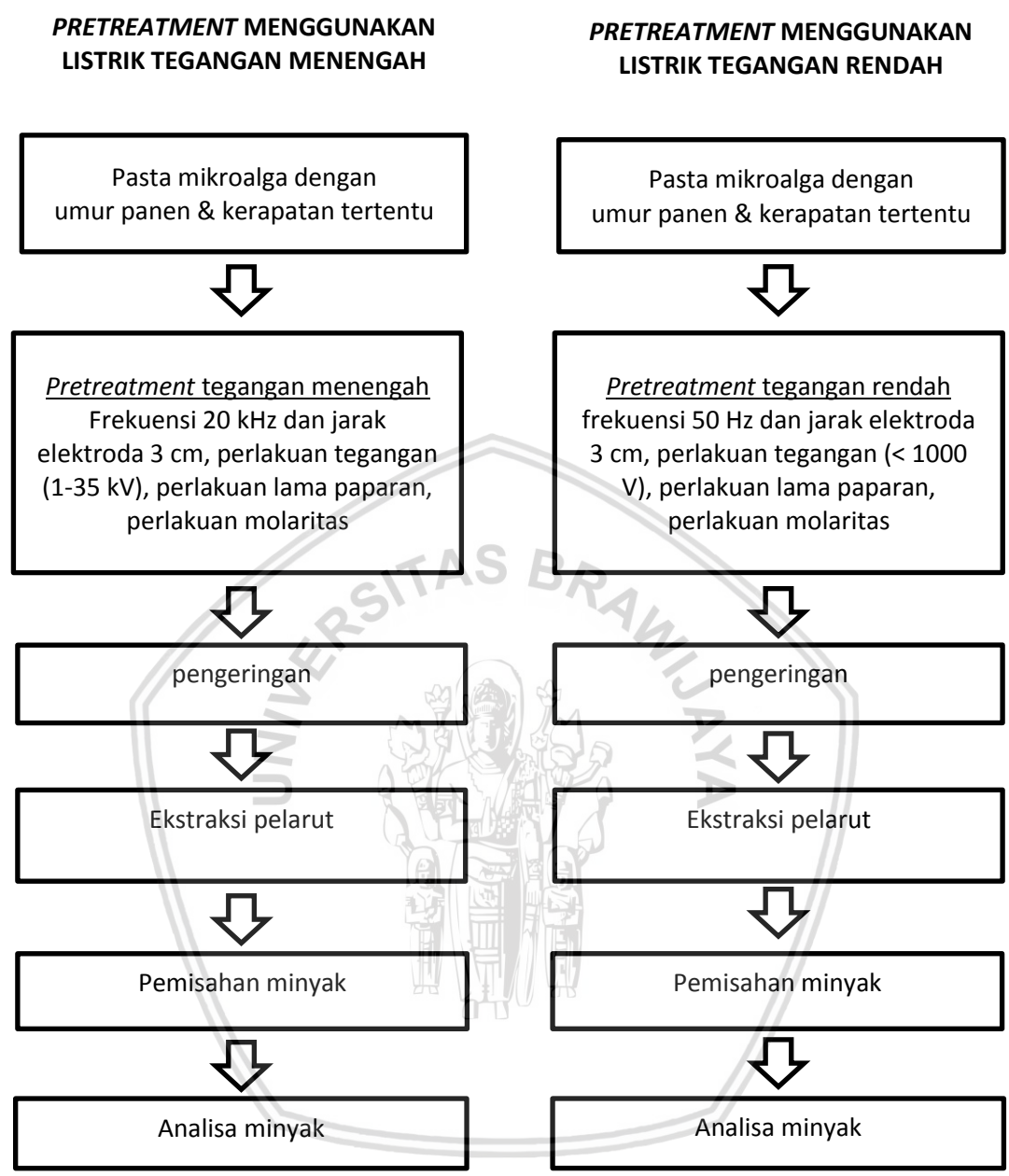
Skema pemanfaatan mikrolaga sebagai bahan baku energi terbarukan seperti pada Gambar 3.5. Minyak mikroalga digunakan sebagai bahan baku biodiesel sedangkan pati dan protein yang terkandung dalam mikroalga sebagai bahan baku bioetanol. Penelitian ini difokuskan pada bagaimana mengeluarkan minyak dari mikroalga dengan bantuan *pretreatment* agar hasil minyak meningkat.

Tahapan penelitian adalah sebagai berikut :

1. Tahap I : *pretreatment* listrik tegangan menengah.
2. Tahap II : *pretreatment* menggunakan listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*). Diagram alir penelitian tahap I dan tahap II seperti pada Gambar 3.6 dan Gambar 3.7.



Gambar 3.5 Integrasi proses pemanfaatan mikroalga
(Sumber : Dragone *et al.*, 2010)



Gambar 3.6 Diagram alir penelitian Tahap I

Gambar 3.7 Diagram alir penelitian Tahap II

3.4 Definisi operasional variabel dan pengukurannya

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah tegangan listrik, lama paparan, dan konsentrasi garam (NaCl) sedangkan variabel terikat adalah tingkat ekstraksi dan komposisi asam lemak. Ringkasan variabel penelitian seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Ringkasan pengukuran variabel penelitian

No	Variabel	Cara pengukuran	Peralatan	Hasil
1	Amplitudo/ tegangan	Untuk tegangan diukur secara tidak langsung dengan melalui metode sela bola sedangkan untuk tegangan rendah diukur dengan cara menghubungkan elektroda positif dan negatif dengan volt meter	Volt meter	Angka Besar kecilnya tegangan
2	Durasi/lama	Dimulai sebelum <i>pretreatment</i> dengan sampai selesai <i>pretreatment</i>	Stop watch	Angka panjang pendeknya waktu
3	Kandungan garam	Diukur berdasarkan molaritas larutan (mol NaCl per volume)	Menggunakan perhitungan	Angka besar kecilnya molaritas

3.5 Kerangka operasional pelaksanaan penelitian

Kegiatan penelitian dimulai dengan kegiatan studi literatur dari berbagai sumber melalui internet dan perpustakaan antara lain jurnal elektronik, prosiding seminar, produk patent, disertasi, tesis, skripsi, buku teks dan tukar pendapat dengan pihak-pihak yang kompeten.

Kerangka operasional penelitian meliputi :

- a. Pembuatan proposal
- b. Ujian kualifikasi
- c. Sidang komisi
- d. Ujian proposal
- e. Pelaksanaan penelitian terdiri atas
 1. Persiapan alat dan bahan uji/sampel
 2. Pengujian
 3. Analisa
- f. Pembuatan artikel jurnal
- g. Pembuatan laporan
- h. Seminar hasil
- i. Ujian akhir Disertasi

Dalam pelaksanaan penelitian, kegiatan yang akan dilakukan adalah:

1. Persiapan alat dan bahan

Persiapan alat meliputi pembuatan alat *pretreatment* yaitu kejut listrik menggunakan listrik tegangan menengah dan *Ohmic Heating* menggunakan arus listrik tegangan rendah.

Persiapan bahan meliputi pengadaan bahan yang akan diuji atau diberi perlakuan yaitu mikroalga. Mikroalga yang digunakan adalah *Nannochloropsis* sp dalam keadaan segar.

2. Pengujian

Pengujian awal/pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kesiapan alat atau untuk melihat berfungsi tidaknya alat yang telah dirangkai. Setelah alat yang akan digunakan telah siap maka dilakukan pengujian dengan menempatkan bahan uji dalam ruang *pretreatment* dengan mengatur besar tegangan, lama *pretreatment*, dan konsentrasi NaCl.

3. Analisis

Analisis secara kuantitatif terhadap minyak mikroalga yang dihasilkan.



IV. METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan pada bulan April 2016 sampai dengan April 2017 bertempat di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Laboratorium Teknik Tegangan Tinggi, Laboratorium Teknik Pengolahan Pangan Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.

4.2 Bahan dan peralatan

4.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah mikroalga laut spesies *Nannochloropsis* sp. Mikroalga diperoleh dari BBPBL (Balai Besar Perikanan Budidaya Laut), Lampung. Budidaya/kultur mikroalga dilakukan pada kolam budidaya terbuka (*open pond*) dengan kapasitas 30.000 L. Kultur mikroalga dilakukan secara bertingkat. Tahapan kultur dimulai dari skala laboratorium 5 L, selanjutnya dipindahkan ke bak kapasitas 1.000 L, selanjutnya ke bak 2.000 L, selanjutnya ke bak 10.000 L dan terakhir ke bak 30.000 L.

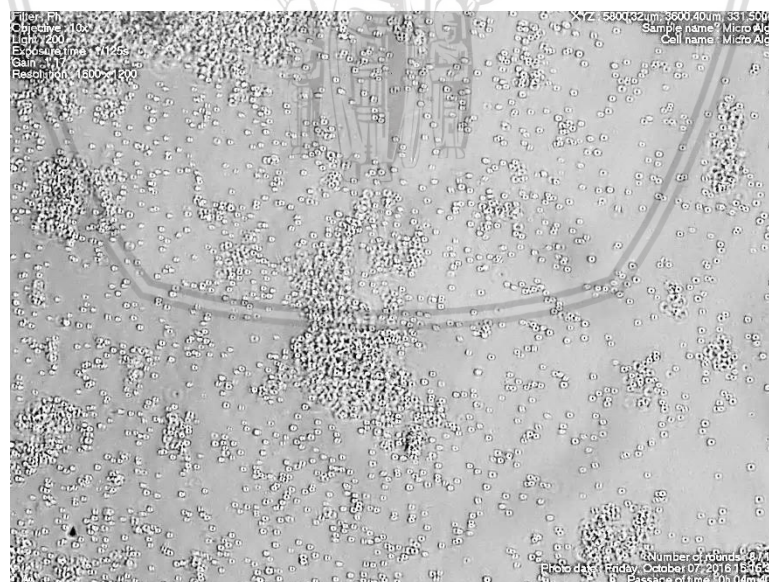
Media kultur yang digunakan adalah air laut dengan kadar garam 28×10^6 ppm. Nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan mikroalga skala laboratorium adalah pupuk Conwy (Fogg dan Thake, 1987). Pada kultur skala massal di BBPBL menggunakan pupuk urea, ZA, TSP dan bahan lain dengan perbandingan tertentu. Cahaya yang digunakan mikroalga untuk fotosintesis adalah sinar matahari. Pengadukan dan penambahan CO_2 menggunakan aerator pedal secara terus menerus.

Pemanenan *Nannochloropsis* sp menggunakan metode *flocculation* yaitu mengumpulkan sel mikroalga bersama untuk membentuk partikel yang lebih besar (Joannes *et al.*, 2015). Pemanenan dilakukan pada hari ke-4 dengan menambahkan NaOH 100-150 ppm (sebagai bahan penggumpal) sampai pH sekitar 8-8,5. Kerapatan sel sekitar 20×10^6 sel/mL. Gumpalan akan mengendap setelah didiamkan selama 24 jam, selanjutnya endapan dipisahkan dari cairan. Endapan *Nannochloropsis* sp dibilas dengan air bersih dan dinetralkan dengan asam sitrat hingga pH menjadi 7-8. Pasta mikroalga diperoleh dengan cara disaring menggunakan *plankton net* atau kain satin (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Pasta *Nannochloropsis* sp

Kadar air pasta mikroalga *Nannochloropsis* sp diukur dengan metode oven. Pasta mikroalga yang digunakan memiliki kadar air antara 90-90,41%. Kerapatan sel mikroalga dihitung menggunakan *haemocytometer*. Kerapatan awal pasta mikroalga $\pm 1,527 \times 10^9$ sel/mL. Kerapatan sel mikroalga pada pengenceran 30 g/L adalah $0,565 \times 10^9$ - $0,612 \times 10^9$ sel/mL. Pengenceran dilakukan dengan menambahkan aquades atau larutan garam dapur (NaCl) sesuai dengan perlakuan. Foto *Nannochloropsis* sp menggunakan mikroskop seperti Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Foto *Nannochloropsis* sp pembesaran 1000x

Sel mikroalga *Nannochloropsis* sp termasuk mikroalga laut prokariotik berbentuk bulat lonjong dengan ukuran 2-4 μm , memiliki dua flagella, memiliki kloroplas, mengandung klorofil A dan C serta pigmen *fucoxanthin*.

Nannochloropsis sp. bersifat kosmopolit, tumbuh pada salinitas $0-35 \times 10^6$ ppm. Salinitas optimum adalah $25 \times 10^6 - 35 \times 10^6$ ppm dengan suhu $25-30^\circ\text{C}$ dan tumbuh baik pada kisaran pH 8-9,5.

Selain pasta mikroalga, bahan lain yang diperlukan dalam penelitian adalah aquades sebagai bahan pengencer dan larutan NaCl dengan molaritas 0,01 M dan 0,1 M. Bahan yang digunakan untuk ekstraksi kimia adalah n-heksan.

4.2.2 Peralatan

Alat pembangkit listrik tegangan menengah

Peralatan pembangkit listrik tegangan menengah yang digunakan dibangkitkan oleh trafo tegangan menengah. Komponen peralatan terdiri dari *power supply*, trafo tegangan menengah, sistem kontrol, saluran output. *Power supply* sebagai penyedia tegangan yang akan digunakan oleh trafo tegangan menengah. Trafo yang digunakan adalah trafo *flyback* TV. Sistem kontrol digunakan untuk mengatur variasi tegangan dan frekuensi. Saluran output digunakan untuk meneruskan tegangan menengah ke ruang *pretreatment*.

Output tegangan yang dihasilkan oleh alat pembangkit ada 3 tingkat tegangan yaitu 10,71 kV; 11,2 kV dan 12,66 kV dengan frekuensi 20 kHz. Jika jarak elektroda 3 cm maka kuat medan listriknya dari ketiga tegangan tersebut adalah 3,57 kV/cm; 3,73 kV/cm; dan 4,22 kV/cm. Dalam penelitian ini ketiga tegangan/kuat medan tersebut digunakan karena dari beberapa literatur tidak ada ketentuan mengenai penggunaan tegangan untuk terjadinya proses elektroporasi termasuk juga ketentuan frekuensi yang digunakan.

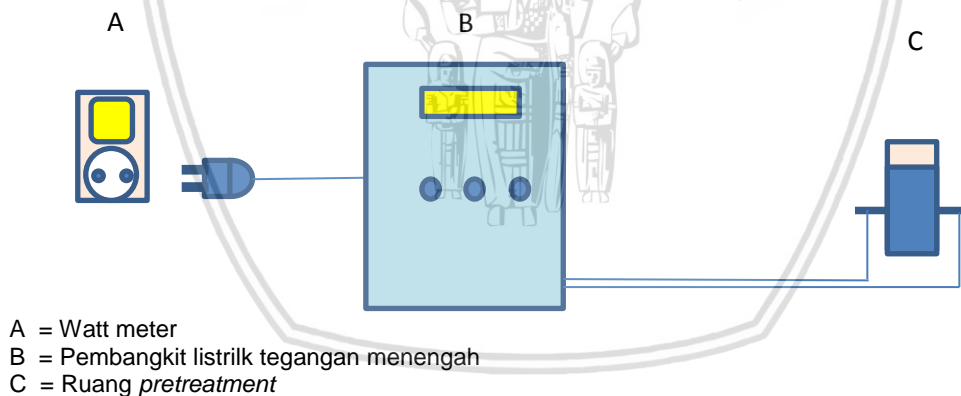
Kuat medan listrik dan frekuensi yang digunakan untuk penelitian menggunakan medan listrik oleh beberapa peneliti adalah berbeda-beda. Foltz (2012), menggunakan kuat medan listrik sebesar 20-30 kV/cm, $f=10-50$ kHz (0,15 kV/cm, $f=14,92$ Hz, 1.6 kV/cm, $f=0,2$ Hz; dan 4.0 kV/cm, $f=3$ Hz), Eing *et al.* (2013) menggunakan kuat medan listrik sebesar 35 kV/cm dan frekuensi $f=1-5,5$ Hz, Goettel *et al.* (2013) menggunakan kuat medan listrik sebesar 23-43 kV/cm dan frekuensi $f=1-5,5$ Hz, Zbinden *et al.* (2013), menggunakan kuat medan listrik sebesar 45 kV/cm dan frekuensi $f=210$ Hz dan Flisar *et al.* (2014), menggunakan kuat medan listrik sebesar 2,7 kV/cm dan frekuensi $f=10$ Hz.

Ruang *pretreatment* terbuat dari bahan *acrylic* (Gambar 4.3). Dimensi ruang *pretreatment* panjang 50 mm x 50 mm x 30 mm. Di dalam ruang *pretreatment* terdapat elektroda anoda dan katoda sebagai penerus aliran listrik

ke bahan yang akan diberi perlakuan. Elektroda berbahan *stainless steel* tebal 1 mm dengan dimensi 50 mm x 50 mm. Rangkaian alat pembangkit listrik tegangan menengah seperti pada Gambar 4.4. Pemilihan *stainless steel* sebagai elektrode berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kempkes (2011), Foltz (2012), Zbinden *et al.* (2013) dan Flisar *et al.* (2014) karena *stainless steel* memiliki konduktivitas listrik yang baik, murah dan tersedia dipasaran.



Gambar 4.3 Ruang *pretreatment* tipe *batch*



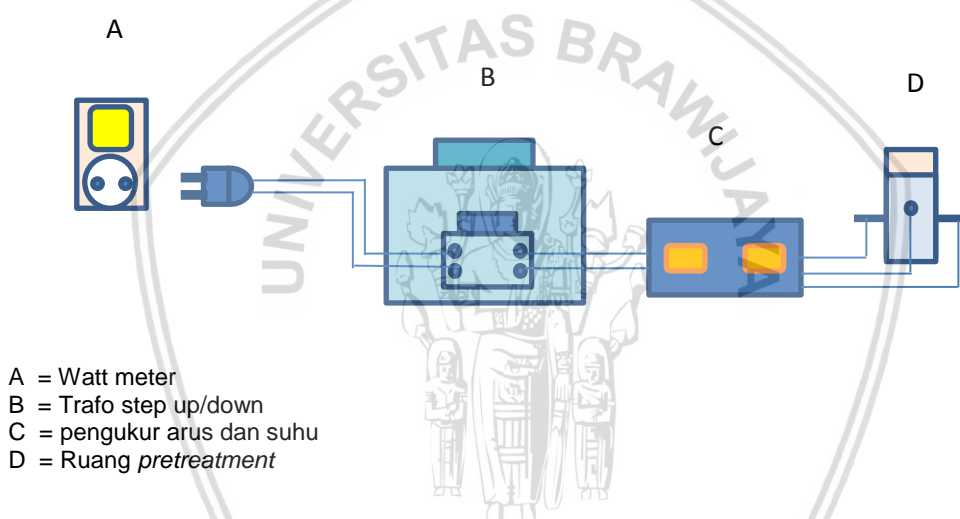
Gambar 4.4 Rangkaian peralatan *pretreatment* tegangan menengah

Alat *Ohmic Heating* (OH)

Peralatan OH yang digunakan dibangkitkan oleh trafo regulator dengan daya 1.000 W dan frekuensi 50 Hz. Trafo ini berfungsi untuk merubah tegangan antara 0-220 V. Output dari trafo berupa tegangan AC yang siap dihubungkan ke elektroda ruang *pretreatment*. Dalam penelitian ini tegangan yang digunakan adalah 55 V dan 110 V karena dari beberapa literatur tidak ada ketentuan yang mengatur besarnya tegangan untuk *pretreatment* menggunakan tegangan

rendah. Jarak elektroda yang digunakan adalah 3 cm sehingga kuat medan listrik sebesar 18,33 V/cm dan 36,67 V/cm.

Ruang *pretreatment* terbuat dari bahan *acrylic* (Gambar 4.3). Dimensi ruang *pretreatment* panjang 50 mm x 50 mm x 30 mm. Di dalam ruang *pretreatment* terdapat elektroda anoda dan katoda sebagai penerus aliran listrik ke bahan yang akan diberi perlakuan. Elektroda berbahan *stainless steel* tebal 1 mm dengan dimensi 50 mm x 50 mm. Rangkaian alat OH seperti pada Gambar 4.5. Pemilihan elektrode *stainless steel* berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kempkes (2011), Foltz (2012), Zbinden *et al.* (2013) dan Flisar *et al.* (2014) karena *stainless steel* memiliki konduktivitas listrik yang baik, murah dan tersedia di pasaran.



Gambar 4.5 Rangkaian peralatan *pretreatment* tegangan rendah (*Ohmic Heating*)

4.3 Prosedur penelitian

Penelitian tahap pertama menggunakan listrik tegangan menengah dengan kombinasi tiga perlakuan (Tabel 4.1). Perlakuan pertama adalah tegangan (V_p) terdiri atas 3 level yaitu $V_{p1}=10,71$ kV ($E=3,57$ kV/cm); $V_{p2}=11,2$ kV ($E=3,73$ kV/cm); $V_{p3}=12,66$ kV ($E=4,22$ kV/cm), perlakuan kedua lama *pretreatment* (T_p) terdiri atas 2 level yaitu $T_{p1}=30$ detik, $T_{p2}=90$ detik, dan perlakuan ketiga molaritas larutan (M_p) terdiri atas 2 level yaitu $M_{p0}=0$ M dan $M_{p1}=0,1$ M. Perlakuan terbaik ditentukan dengan analisis sidik ragam.

Penelitian tahap kedua menggunakan listrik tegangan rendah berasal dari listrik PLN dalam bentuk *Ohmic Heating* (OH) dengan perlakuan 3 faktor (Tabel 4.2). Perlakuan pertama tegangan (V_h) terdiri atas 2 level yaitu $V_{h1}=55$ V dan

$V_{h2}=110$ V, perlakuan kedua lama *pretreatment* (T_h) terdiri atas 2 level yaitu $T_{h1}=30$ detik, $T_{h2}=60$ detik, dan perlakuan ketiga adalah molaritas larutan (M_h) terdiri atas 3 level yaitu $M_{h0}=0$ M; $M_{h1}=0,01$ M dan $M_{h2}=0,1$ M. Perlakuan terbaik dilakukan dengan analisis sidik ragam.

Tabel 4.1 Kombinasi perlakuan penelitian tahap pertama menggunakan *Pretreatment* listrik tegangan menengah

Perlakuan		Molaritas (M_p)	
Tegangan (V_p)	Lama <i>treatment</i> (T_p)	M_{p0}	M_{p1}
V_{p1}	T_{p1}	$V_{p1}T_{p1}M_{p0}$	$V_{p1}T_{p1}M_{p1}$
	T_{p2}	$V_{p1}T_{p2}M_{p0}$	$V_{p1}T_{p2}M_{p1}$
V_{p2}	T_{p1}	$V_{p2}T_{p1}M_{p0}$	$V_{p2}T_{p1}M_{p1}$
	T_{p2}	$V_{p2}T_{p2}M_{p0}$	$V_{p2}T_{p2}M_{p1}$
V_{p3}	T_{p1}	$V_{p3}T_{p1}M_{p0}$	$V_{p3}T_{p1}M_{p1}$
	T_{p2}	$V_{p3}T_{p2}M_{p0}$	$V_{p3}T_{p2}M_{p1}$

Keterangan: $V_{p1}=10,71$ kV ($E=3,57$ kV/cm); $V_{p2}=11,2$ kV ($E=3,73$ kV/cm); $V_{p3}=12,66$ kV ($E=4,22$ kV/cm); $T_{p1}=30$ detk; $T_{p2}=90$ detik; $M_{p0}=0$ M; $M_{p1}=0,1$ M

Tabel 4.2 Kombinasi perlakuan penelitian tahap kedua menggunakan *Pretreatment* tegangan rendah *Ohmic Heating*

Perlakuan		Molaritas (M_h)		
Tegangan (V_h)	Lama <i>treatment</i> (T_h)	M_{h0}	M_{h1}	M_{h2}
V_{h1}	T_{h1}	$V_{h1}T_{h1}M_{h0}$	$V_{h1}T_{h1}M_{h1}$	$V_{h1}T_{h1}M_{h2}$
	T_{h2}	$V_{h1}T_{h2}M_{h0}$	$V_{h1}T_{h2}M_{h1}$	$V_{h1}T_{h2}M_{h2}$
V_{h2}	T_{h1}	$V_{h2}T_{h1}M_{h0}$	$V_{h2}T_{h1}M_{h1}$	$V_{h2}T_{h1}M_{h2}$
	T_{h2}	$V_{h2}T_{h2}M_{h0}$	$V_{h2}T_{h2}M_{h1}$	$V_{h2}T_{h2}M_{h2}$

Keterangan: $V_{h1}=55$ V ($18,33$ V/cm); $V_{h2}=110$ V ($36,67$ V/cm); $T_{h1}=30$ detik; $T_{h2}=60$ detik; $M_{h0}=0$ M; $M_{h1}=0,01$ M; $M_{h2}=0,1$ M

4.4 Tahapan penelitian

Persiapan bahan uji mikroalga

1. Bahan uji pasta mikroalga yang digunakan adalah *Nannochloropsis* sp diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung.
2. Pasta mikroalga *Nannochloropsis* sp. diperoleh dari hasil pemanenan dengan cara *flokulasi*.

Pengujian *pretreatment* kejut listrik tegangan menengah (bagian pertama)

1. Pengujian dilakukan terhadap pasta mikroalga
2. *Pretreatment* dilakukan secara batch (tidak terus menerus) sesuai lama perlakuan
3. Pasta mikroalga ditambahkan aquades (M_{p0}) untuk pengenceran sehingga diperoleh konsentrasi 30 g/L

4. Mikroalga encer dimasukkan ke dalam ruang *pretreatment* listrik tegangan menengah dan selanjutnya diberi aliran listrik dengan tegangan 10,71 kV (V_{p1}) selama 30 detik (T_{p1})
5. Melakukan pengambilan data mengenai perubahan suhu, arus listrik dan tegangan selama perlakuan
6. Langkah di atas diulangi untuk mikroalga dengan molaritas, tegangan dan waktu yang berbeda sesuai perlakuan
7. Mikroalga setelah diberi perlakuan selanjutnya didiamkan terlebih dahulu untuk memisahkan endapan mikroalga dan cairan
8. Meringkan pasta mikroalga dengan oven dengan suhu 60-70 °C
9. Melakukan ekstraksi menggunakan peralatan *Soxhlet*

Pengujian *pretreatment* listrik tegangan rendah (bagian kedua)

1. Pengujian dilakukan terhadap pasta mikroalga
2. *Pretreatment* dilakukan secara batch (tidak terus menerus) sesuai lama perlakuan
3. Pasta mikroalga ditambahkan aquades (M_{h0}) untuk pengenceran sehingga diperoleh konsentrasi 30 g/L
4. Mikroalga encer dimasukkan ke dalam ruang *pretreatment* listrik tegangan rendah dan selanjutnya diberi aliran listrik dengan tegangan 55 V (V_{h1}) selama 30 detik (T_{h1})
5. Melakukan pengambilan data mengenai perubahan suhu, arus listrik dan tegangan selama perlakuan
6. Langkah di atas diulangi untuk mikroalga dengan molaritas, tegangan dan waktu yang berbeda sesuai perlakuan
7. Mikroalga setelah diberi perlakuan selanjutnya didiamkan terlebih dahulu untuk memisahkan mikroalga padat dan cairan
8. Meringkan mikroalga padat dengan oven
9. Mikroalga setelah diberi perlakuan selanjutnya didiamkan terlebih dahulu untuk memisahkan mikroalga padat dan cairan
10. Meringkan pasta mikroalga dengan oven dengan suhu 60-70 °C
11. Melakukan ekstraksi menggunakan peralatan *Soxhlet*

Ekstraksi *Soxhlet*

1. Menyiapkan mikroalga kering
2. Menyiapkan labu lemak ukuran 100 mL, dikeringkan dalam oven, dan didinginkan dalam desikator

3. Menimbang ± 5 g sampel mikroalga kering dalam bentuk tepung dan membungkusnya menggunakan kertas saring
4. Meletakkan kertas saring yang berisi sampel mikroalga dalam alat ekstraksi *Soxhlet*, kemudian pasang alat kondensor di atasnya dan labu lemak di bawahnya
5. Menuang 100 mL pelarut n-heksana kedalam labu lemak
6. Melakukan *refluks* selama minimum 5 jam
7. Memisahkan lemak yang terdapat pada labu lemak menggunakan *rotary vacuum evaporator*
8. Menimbang lemak yang telah diperoleh. Berat lemak dihitung dengan persamaan

$$\% \text{ minyak} = \frac{\text{Berat minyak (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100$$

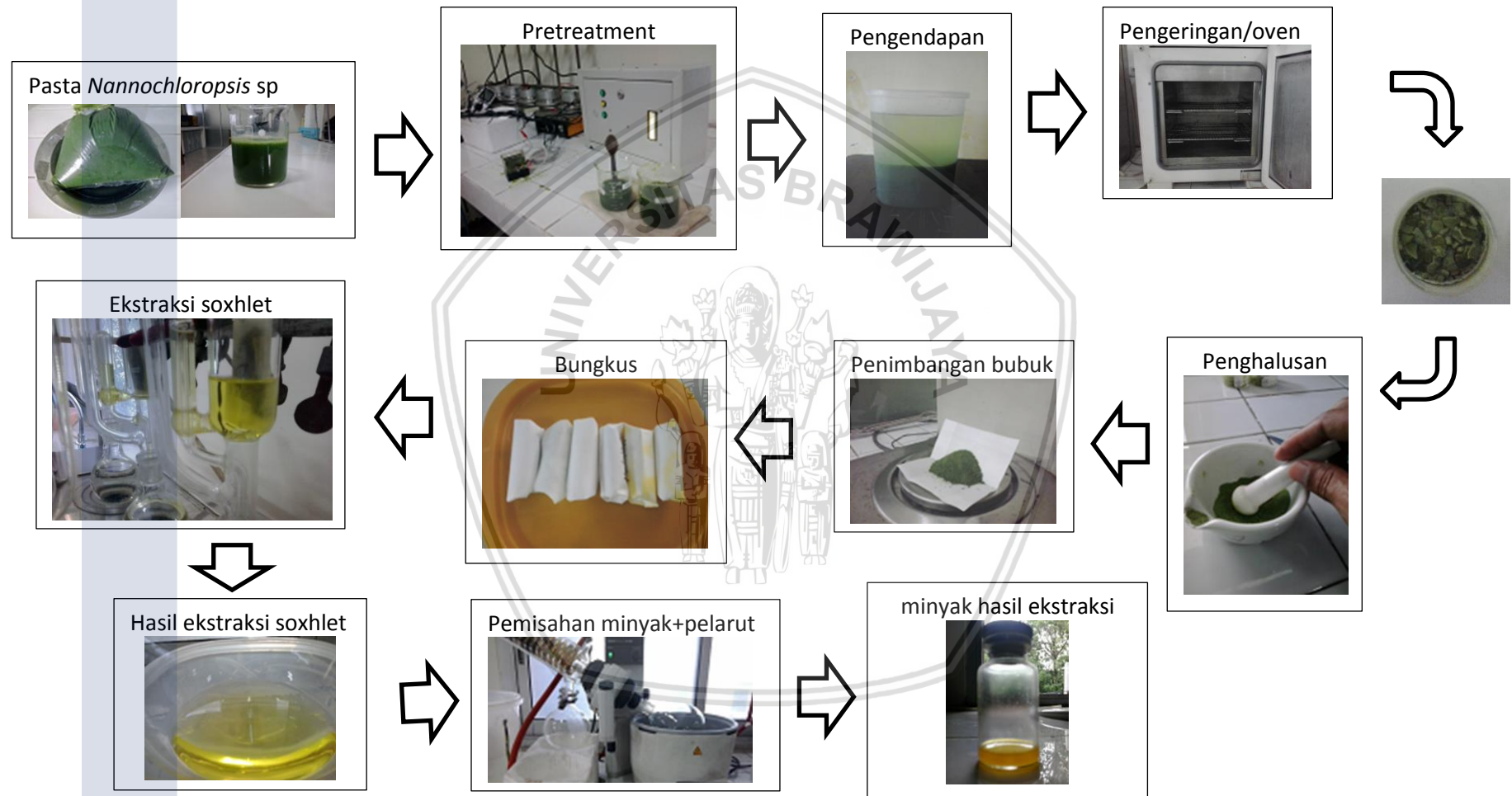
Analisa asam lemak

Analisa asam lemak menggunakan peralatan GC-MS

Pengamatan

Pada perlakuan *pretreatment* yang diamati adalah perubahan suhu dalam ruang *pretreatment*, arus listrik, dan jumlah minyak yang dihasilkan. Skema pelaksanaan penelitian seperti pada Gambar 4.6 dan foto-foto kegiatan penelitian seperti pada Lampiran 14.

Skema pelaksanaan penelitian



Gambar 4.6 Skema pelaksanaan penelitian



V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 *Pretreatment* menggunakan listrik

Secara umum penelitian ini terbagi menjadi 2 bagian. Penelitian bagian pertama menguraikan tentang penggunaan listrik tegangan menengah/*medium voltage* (1-35 kV) sebagai metode *pretreatment* untuk meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga. Penelitian bagian kedua menguraikan tentang penggunaan listrik tegangan rendah/*low voltage* (<1 kV) dalam bentuk *Ohmic Heating* sebagai metode *pretreatment* dalam meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga. Kedua macam listrik tersebut yaitu tegangan menengah dan tegangan rendah memiliki potensi sebagai metode *pretreatment* dalam meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga.

Pemberian tegangan listrik bertujuan untuk merusak membran sel. Tegangan listrik yang diberikan pada sel mikroalga akan merusak membran sel dan menyebabkan terbentuknya pori-pori atau dikenal dengan istilah elektroporasi. Sel yang telah mengalami elektroporasi selanjutnya diekstraksi dengan pelarut kimia (n-heksan) menggunakan metode *Soxhlet*.

5.1.1 Ekstraksi mikroalga menggunakan *pretreatment* listrik tegangan menengah

Minyak mikroalga hasil ekstraksi *Soxhlet* dengan *pretreatment* listrik tegangan menengah seperti pada Tabel 5.1. Besarnya rendemen minyak bervariasi antara 2,55-7,37%. Rendemen tertinggi terjadi pada kombinasi perlakuan tegangan 10,71 kV (kuat medan listrik 3,57 kV/cm), lama paparan 30 detik dan molaritas larutan pengencer 0,1 M ($V_{p1}T_{p1}M_{p1}$) sedangkan terendah terjadi pada kombinasi perlakuan tegangan 12,66 kV (kuat medan listrik 4,22 kV/cm), lama paparan 90 detik dan molaritas larutan pengencer 0 M ($V_{p3}T_{p2}M_{p0}$).

Hasil analisa sidik ragam data pada Tabel 5.1 menggunakan SPSS menunjukkan bahwa faktor perlakuan tegangan (V), faktor perlakuan lama paparan (T), dan faktor perlakuan molaritas pengenceran (M) berpengaruh nyata terhadap hasil ekstraksi minyak mikroalga (Lampiran 2). Perlakuan lainnya seperti kombinasi faktor perlakuan lama paparan dengan molaritas (interaksi TM), kombinasi faktor perlakuan tegangan dengan lama paparan (interaksi VT), kombinasi faktor perlakuan tegangan dengan molaritas (interaksi VM), dan kombinasi antara faktor perlakuan tegangan, lama paparan dengan molaritas (interaksi VTM) memberikan hasil yang tidak berbeda.

Tabel 5.1 Minyak hasil ekstraksi menggunakan *pretreatment* listrik tegangan menengah

Kode	Rata-rata (%)
$V_{p1}T_{p1}M_{p0}$	5,60
$V_{p1}T_{p1}M_{p1}$	7,37
$V_{p1}T_{p2}M_{p0}$	2,66
$V_{p1}T_{p2}M_{p1}$	4,35
$V_{p2}T_{p1}M_{p0}$	6,01
$V_{p2}T_{p1}M_{p1}$	6,76
$V_{p2}T_{p2}M_{p0}$	4,07
$V_{p2}T_{p2}M_{p1}$	5,02
$V_{p3}T_{p1}M_{p0}$	5,36
$V_{p3}T_{p1}M_{p1}$	6,09
$V_{p3}T_{p2}M_{p0}$	2,55
$V_{p3}T_{p2}M_{p1}$	3,79

Keterangan: $V_{p1}=10,71$ kV ($E=3,57$ kV/cm); $V_{p2}=11,2$ kV($E=3,73$ kV/cm); $V_{p3}=12,66$ kV ($E=4,22$ kV/cm); $T_{p1}=30$ detk; $T_{p2}=90$ detik; $M_{p0}=0$ M; $M_{p1}=0,1$ M

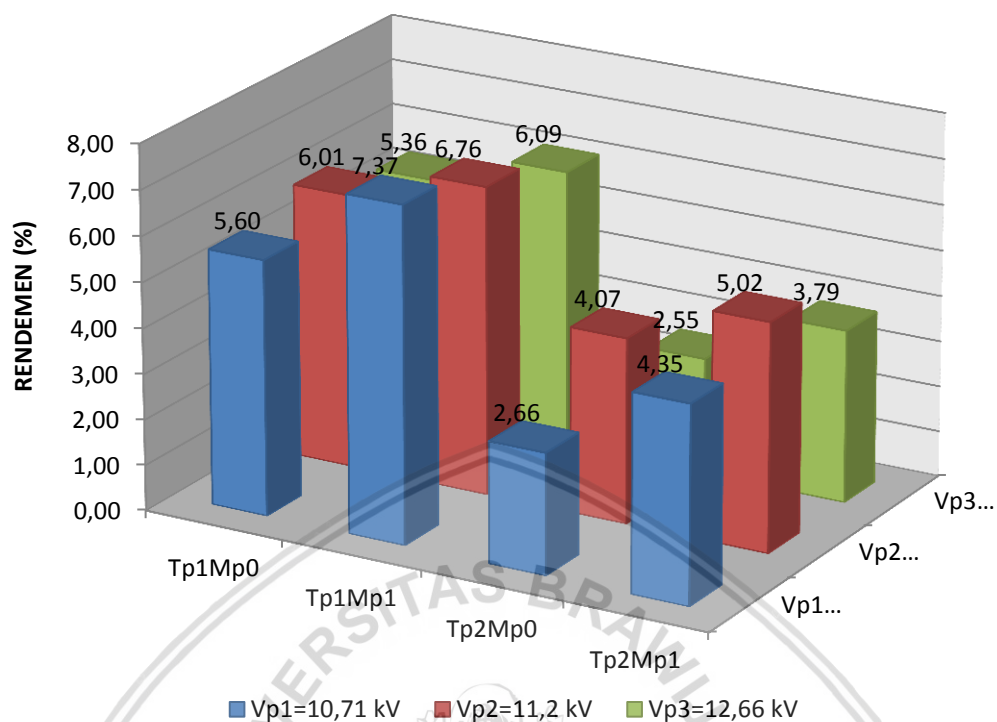
Tabel 5.2 menyajikan hasil uji BNT untuk perlakuan tegangan (V) dan Gambar 5.1 menyajikan rendemen minyak mikroalga pada tegangan yang berbeda dari penggunaan tegangan menengah sebagai metode *pretreatment*.

Tabel 5.2 Uji BNT minyak hasil ekstraksi faktor perlakuan tegangan (V_p)

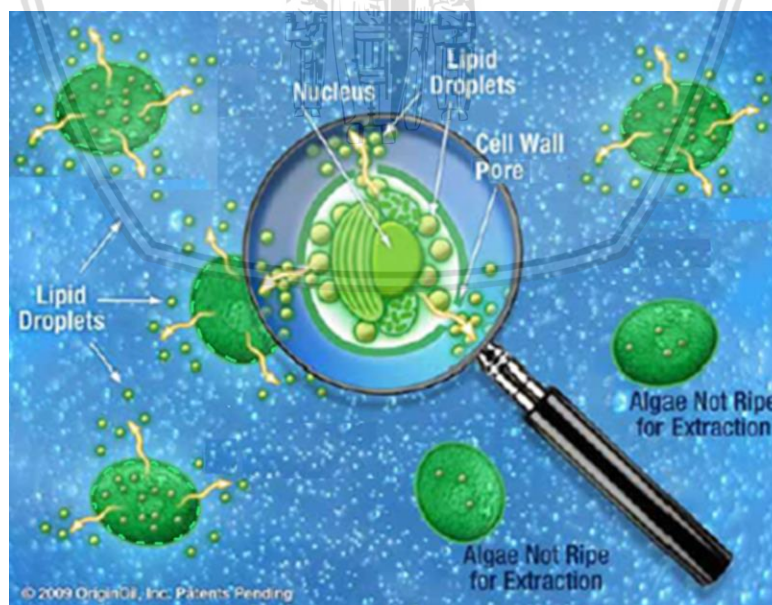
Tegangan (V)		V_{p3}	V_{p1}	V_{p2}	keterangan
		4,45	5,00	5,46	
V_{p3}	4,45	0	-	-	a
V_{p1}	5,00	-0,55	0	-	ab
V_{p2}	5,46	-1,01	-0,47	0	b

Keterangan: $V_{p1}=10,71$ kV ($E=3,57$ kV/cm); $V_{p2}=11,2$ kV ($E=3,73$ kV/cm); $V_{p3}=12,66$ kV ($E=4,22$ kV/cm); BNT $0,05=0,7144$

Berdasarkan Tabel 5.2 dan Gambar 5.1 tersebut rendemen minyak mikroalga rata-rata hasil ekstraksi dengan perlakuan tegangan memberikan hasil yang berbeda yaitu berkisar antara 4,45-5,46%. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan tegangan memberikan hasil yang berbeda. Perlakuan tegangan V_{p1} tidak berbeda dengan tegangan V_{p2} dan V_{p3} tetapi perlakuan tegangan V_{p2} berbeda nyata dengan perlakuan tegangan V_{p3} .



Gambar 5.1 Rendemen minyak mikroalga menggunakan *pretreatment* listrik tegangan menengah pada tegangan yang berbeda



Gambar 5.2 Ilustrasi membran sel yang mengalami elektroporasi
(Sumber : Dimodifikasi dari OriginOil, 2010)

Perlakuan tegangan V_{p3} memberikan hasil terendah dibanding kedua perlakuan lainnya. Pada perlakuan ini terjadi kerusakan yang lebih besar pada membran sel akibat paparan tegangan listrik. Peningkatan tegangan listrik menghasilkan elektroporasi dengan area yang lebih luas sedangkan lama paparan akan meningkatkan tingkat elektroporasi (Rols, 2006; Kanduser and Damijan, 2008). Dengan kondisi demikian maka dimungkinkan isi sel mikroalga termasuk minyak akan keluar dan bercampur dengan cairan. Gambar 5.2 ilustrasi membran sel mikroalga yang mengalami elektroporasi akibat terkena paparan medan listrik.

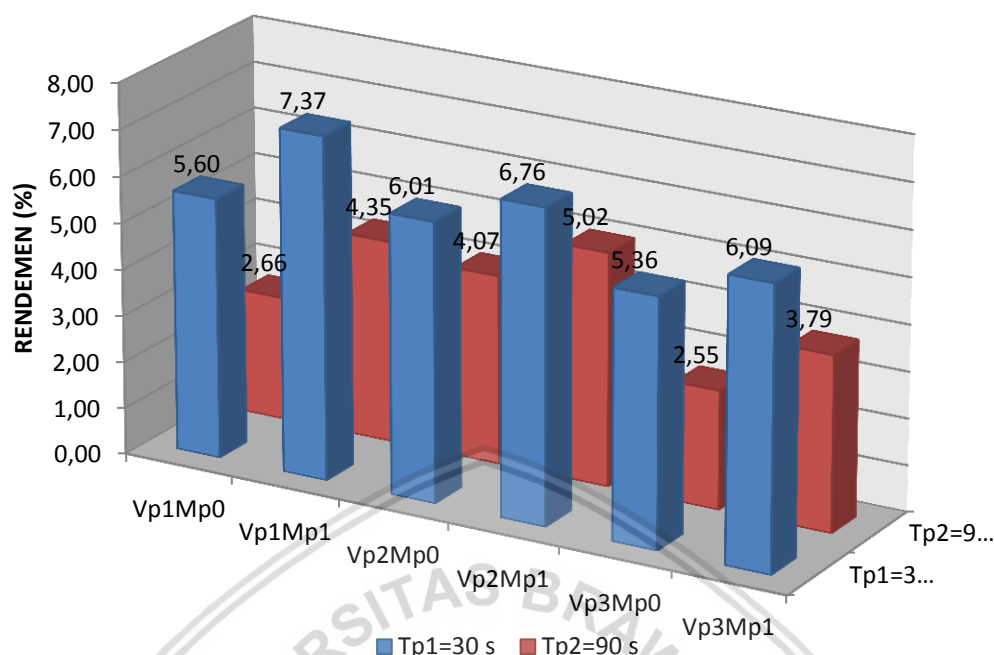
Tahapan setelah paparan listrik adalah pengendapan dengan tujuan untuk memisahkan antara padatan (mikroalga) dan cairan. Cairan pada bagian atas dibuang agar proses pengeringan lebih cepat. Sebagian cairan yang terbuang mengandung lipid akibat *pretreatment* karena berat jenis lipid lebih rendah dari pada air. Lipid juga hilang pada saat proses pengeringan dan persiapan ekstraksi menggunakan pelarut kimia. Hal ini yang menyebabkan bahwa semakin tinggi tegangan maka rendemen minyak semakin rendah.

Hasil uji lanjutan menggunakan BNT dengan faktor perlakuan lama paparan (T_p) seperti pada Tabel 5.3 dan rendemen minyak mikroalga pada lama paparan yang berbeda seperti pada Gambar 5.3. Hasil uji BNT perlakuan lama paparan antara T_{p1} dengan T_{p2} menunjukkan perbedaan. Rata-rata lama paparan T_{p1} (30 detik) memberikan hasil lebih tinggi dibandingkan T_{p2} (90 detik). Semakin lama sel terkena paparan listrik tegangan menengah maka akan semakin besar tingkat elektroporasinya sehingga isi sel termasuk lipid akan keluar. Lipid yang sudah keluar dari sel akan hilang pada proses selanjutnya yaitu pengeringan dan persiapan ekstraksi pelarut kimia. Sehingga kerusakan sel yang berlebihan akan menyebabkan penurunan rendemen minyak.

Tabel 5.3 Uji BNT minyak hasil ekstraksi faktor perlakuan lama paparan (T_p)

Lama paparan (T)		T_{p2}	T_{p1}	keterangan
		3,74	6,20	
T_{p2}	3,74	0	-	a
T_{p1}	6,20	-2,46	0	b

Keterangan : T_{p1} =lama paparan 30 detik; T_{p2} =lama paparan 90 detik; BNT 0,5833



Gambar 5.3 Rendemen minyak mikroalga menggunakan *pretreatment* listrik tegangan menengah pada lama paparan yang berbeda

Perbedaan rendemen minyak hasil ekstraksi disebabkan oleh tingkat elektroporasi. Semakin lama sel terkena paparan tegangan listrik maka akan semakin tinggi tingkat elektroporasinya. Tingkat elektroporasi dipengaruhi oleh jumlah pulsa atau durasi (Rols, 2006; Kanduser and Damijan, 2008). Selain itu kondisi media larutan (kekuatan ion) juga ikut mempengaruhi tingkat elektroporasi.

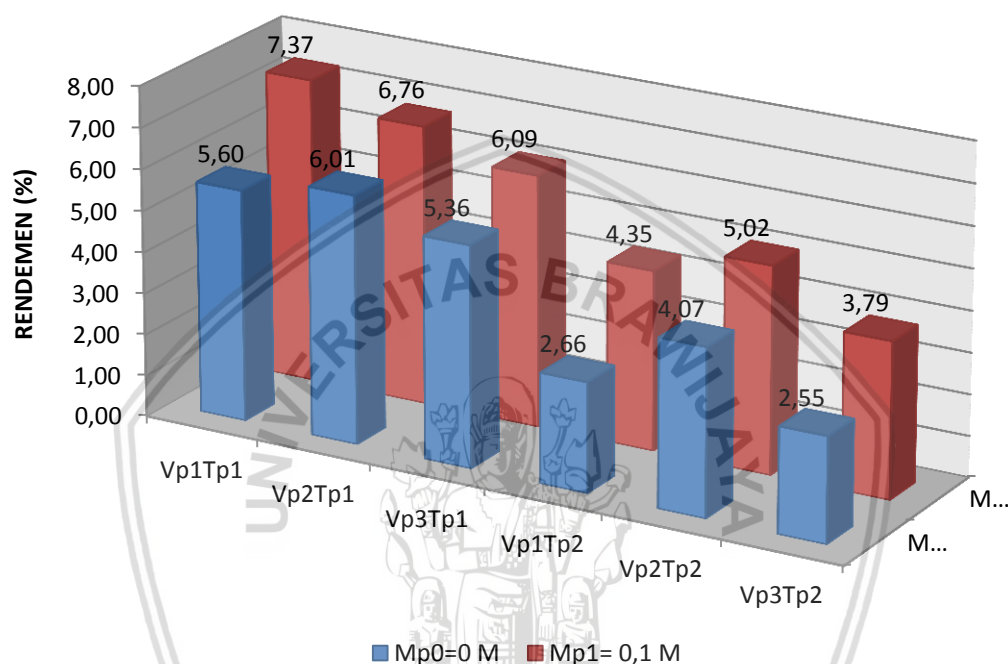
Elektroporasi yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan membran sel yang lebih besar sehingga isi sel termasuk lipid akan keluar dan bercampur dengan cairan. Lipid yang sudah keluar akan hilang pada proses pengeringan. Dalam penelitian ini penggunaan tegangan yang lebih besar (V_{p3}) dan semakin lama paparan (T_{p2}) menyebabkan penurunan rendemen minyak (Gambar 5.3).

Hasil uji lanjutan menggunakan BNT faktor perlakuan molaritas (M_p) seperti Tabel 5.4 dan rendemen minyak mikroalga pada molaritas yang berbeda disajikan pada Gambar 5.4. Berdasarkan tabel tersebut terlihat bahwa perlakuan molaritas memberikan pengaruh yang berbeda terhadap rendemen minyak hasil ekstraksi. Rendemen minyak terendah dihasilkan oleh perlakuan M_{p0} . Hasil uji lanjut BNT menunjukkan bahwa perlakuan M_{p1} berbeda nyata dengan perlakuan M_{p0} .

Tabel 5.4 Uji BNT minyak hasil ekstraksi faktor perlakuan molaritas (M_p)

		M_{p0}	M_{p1}	Keterangan
Molaritas (M)		4,38	5,56	
M_{p0}	4,38	0	-	a
M_{p1}	5,56	-1,19	0	b

Keterangan : $M_{p0}=0$ M ; $M_{p1}=0,1$ M ; BNT 0,05: 0,5833

Gambar 5.4 Rendemen minyak mikroalga menggunakan *pretreatment* listrik tegangan menengah pada molaritas yang berbeda

Minyak hasil ekstraksi dipengaruhi oleh perlakuan molaritas. Pemberian paparan tegangan listrik pada larutan yang memiliki molaritas tinggi akan mempengaruhi kerusakan sel. Semakin tinggi molaritas maka akan semakin besar tingkat kerusakannya. Hal ini ditandai oleh besarnya rendemen minyak yang terekstrak. Larutan dengan molaritas tinggi dalam hal ini larutan garam menunjukkan bahwa semakin tinggi molaritas maka semakin banyak kandungan garamnya. Kandungan garam yang tinggi akan meningkatkan konduktivitas. Konduktivitas yang tinggi akan mempengaruhi tingkat kerusakan sel atau elektroporasi. Salah satu faktor yang mempengaruhi besarnya elektroporasi adalah komposisi kimia media larutan (Kanduser and Damijan, 2008) termasuk kandungan garam.

5.1.2 Ekstraksi mikroalga menggunakan *pretreatment* listrik tegangan rendah

Rendemen minyak mikroalga hasil ekstraksi *Soxhlet* menggunakan *pretreatment* listrik tegangan rendah dalam bentuk *Ohmic Heating* seperti pada Tabel 5.5. Besarnya rendemen minyak berkisar antara 3,06-11,20%. Rendemen tertinggi dihasilkan oleh kombinasi perlakuan tegangan 55 V (kuat medan listrik 18,33 V/cm), lama paparan 60 detik dan molaritas larutan 0,1 M ($V_{h1}T_{h2}M_{h2}$) sedangkan rendemen terendah dihasilkan oleh kombinasi perlakuan tegangan 110 V (kuat medan listrik 36,67 V/cm), lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0,01 M ($V_{h2}T_{h1}M_{h1}$).

Hasil analisa sidik ragam (Lampiran 3) dari data Tabel 5.5 menggunakan SPSS menunjukkan bahwa faktor perlakuan tegangan (V), faktor perlakuan lama paparan (T) dan faktor perlakuan molaritas larutan (M) berpengaruh nyata terhadap minyak hasil ekstraksi. Kombinasi faktor perlakuan tegangan, faktor perlakuan lama paparan dan faktor perlakuan molaritas larutan tidak menunjukkan perbedaan.

Tabel 5.5 Minyak hasil ekstraksi menggunakan *pretreatment* listrik tegangan Rendah

Kode	Rata-rata (%)
$V_{h1}T_{h1}M_{h0}$	6,24
$V_{h1}T_{h1}M_{h1}$	5,45
$V_{h1}T_{h1}M_{h2}$	10,66
$V_{h1}T_{h2}M_{h0}$	7,06
$V_{h1}T_{h2}M_{h1}$	6,07
$V_{h1}T_{h2}M_{h2}$	11,20
$V_{h2}T_{h1}M_{h0}$	4,12
$V_{h2}T_{h1}M_{h1}$	3,06
$V_{h2}T_{h1}M_{h2}$	9,70
$V_{h2}T_{h2}M_{h0}$	5,63
$V_{h2}T_{h2}M_{h1}$	4,03
$V_{h2}T_{h2}M_{h2}$	10,92

Keterangan: V_{h1} =55 V (18,33 V/cm); V_{h2} =110 V (36,67 V/cm); T_{h1} =30 detk;
 T_{h2} =60 detik; M_{h0} =0 M; M_{h1} =0,01 M; M_{h2} =0,1 M

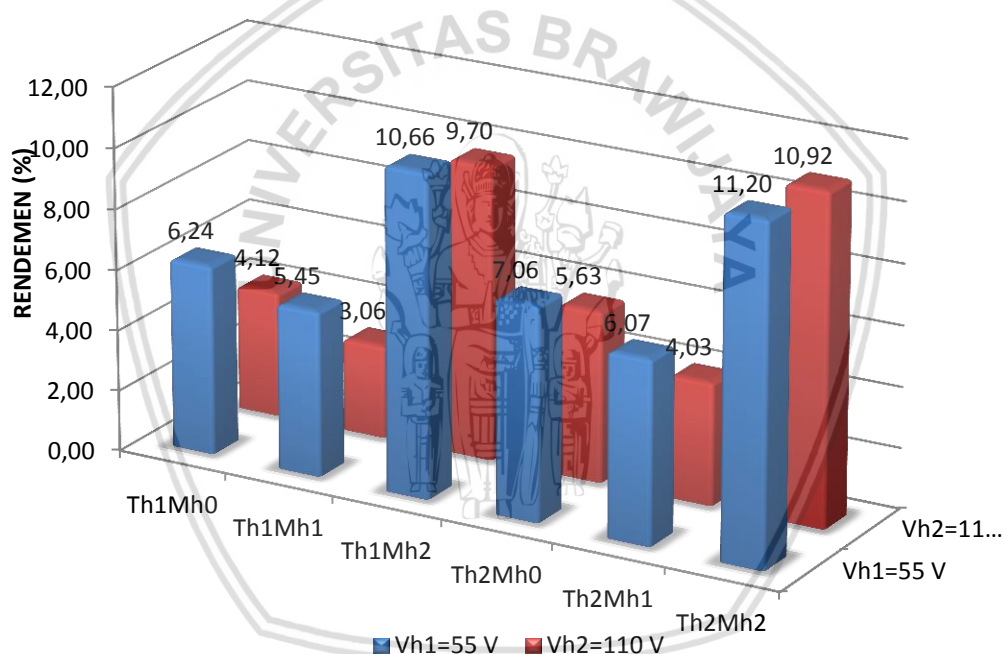
Hasil uji lanjut BNT faktor perlakuan tegangan (V_h) seperti pada Tabel 5.6 dan grafik rendemen minyak mikroalga pada tegangan yang berbeda dari

penggunaan listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) seperti pada Gambar 5.5. Berdasarkan Gambar 5.5 dan Tabel 5.6 terlihat bahwa pemberian tegangan V_{h1} berbeda dengan tegangan V_{h2} . Tegangan V_{h1} (55 V) memberikan hasil minyak yang lebih besar.

Tabel 5.6 Uji BNT minyak hasil ekstraksi perlakuan tegangan (V_h)

Tegangan (V)		V_{h2}	V_{h1}	Keterangan
		6,24	7,78	
V_{h2}	6,24	0	0	a
V_{h1}	7,78	-1,54	0	b

BNT 0,05 0,8127



Gambar 5.5 Rendemen minyak mikroalga menggunakan *pretreatment* listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) pada tegangan yang berbeda

Perbedaan hasil ini menunjukkan bahwa paparan listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) mempengaruhi besarnya kerusakan sel mikroalga. Sel yang terkena paparan akan mengalami elektroporasi dengan demikian maka isi sel akan mudah untuk dikeluarkan. Pelarut n-heksan akan mudah untuk melarutkan lipid sehingga rendemen akan meningkat.

Penggunaan *Ohmic Heating* sebagai metode *pretreatment* menghasilkan panas. Besarnya panas yang dihasilkan dipengaruhi oleh besarnya tegangan

dan arus listrik. Semakin tinggi tegangan maka akan semakin cepat kenaikan suhunya. Demikian juga semakin tinggi arus maka akan semakin besar kenaikan suhunya. Tegangan dan panas mempengaruhi besarnya elektroporasi.

Penggunaan tegangan yang lebih tinggi (V_{h2}) menghasilkan lipid yang lebih rendah. Penggunaan tegangan yang lebih tinggi menyebabkan elektroporasi yang lebih besar. Hal ini menyebabkan isi sel termasuk lipid akan keluar dan bercampur dengan cairan. Pada penelitian ini pasta mikroalga yang telah mengalami elektroporasi diendapkan terlebih dahulu dengan tujuan untuk mempercepat proses pengeringan. Cairan yang telah terpisah dengan padatan dibuang. Sebagian lipid yang ada dalam cairan akan ikut terbang. Selain itu sebagian lipid hilang pada proses pengeringan dan persiapan sebelum ekstraksi menggunakan pelarut.

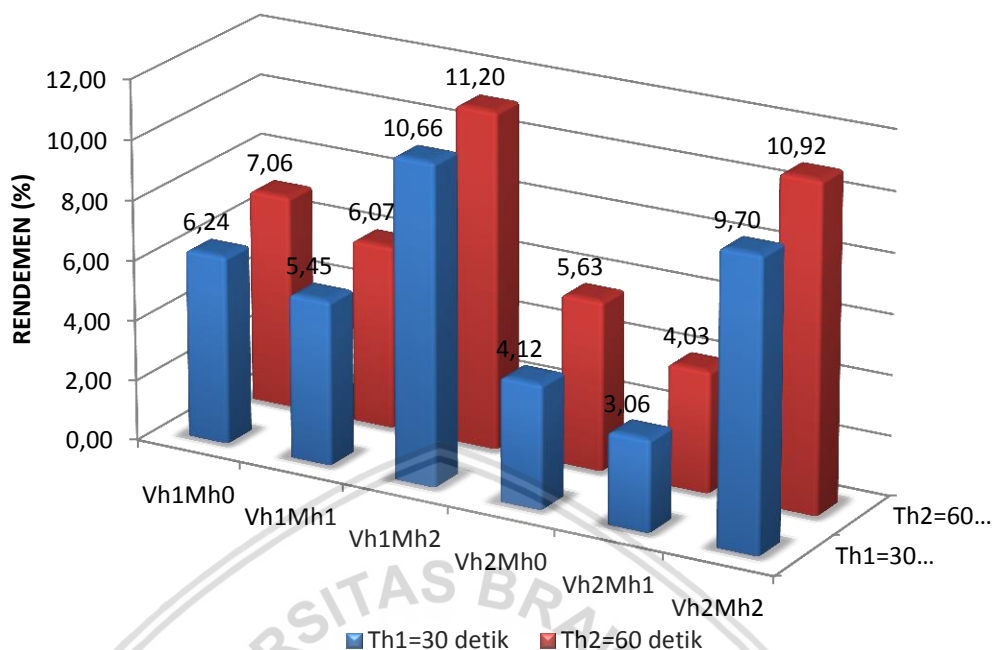
Hasil uji lanjut BNT faktor perlakuan lama paparan (T_h) seperti pada Tabel 5.7 dan grafik rendemen minyak mikroalga pada lama paparan yang berbeda dari penggunaan listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) seperti pada Gambar 5.6. Berdasarkan gambar dan tabel tersebut terlihat bahwa lama paparan mempengaruhi rendemen minyak. Lama paparan T_{h2} menghasilkan minyak lebih besar dibandingkan T_{h1} .

Tabel 5.7 Uji BNT minyak hasil ekstraksi perlakuan lama paparan (T_h)

		T_{h1}	T_{h2}	keterangan
Lama paparan (T)		6,54	7,49	
T_{h1}	6,54	0	-	a
T_{h2}	7,49	-0,95	0	b
BNT 0,05		0,8127		

Semakin lama sel terkena paparan tegangan listrik maka akan semakin besar kerusakan yang terjadi. Dengan semakin besar kerusakannya maka isi sel termasuk minyak akan mudah untuk dikeluarkan sehingga rendemen minyak akan meningkat.

Hasil uji BNT perlakuan molaritas seperti pada Tabel 5.8 dan Grafik rendemen minyak mikroalga pada molaritas yang berbeda dari penggunaan listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) seperti pada Gambar 5.7. Berdasarkan gambar dan tabel tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rendemen akibat perlakuan molaritas. Molaritas tertinggi dihasilkan oleh perlakuan M_{h2} (0,1 M) dan hasil terendah dihasilkan oleh perlakuan M_{h1} (0,01 M).

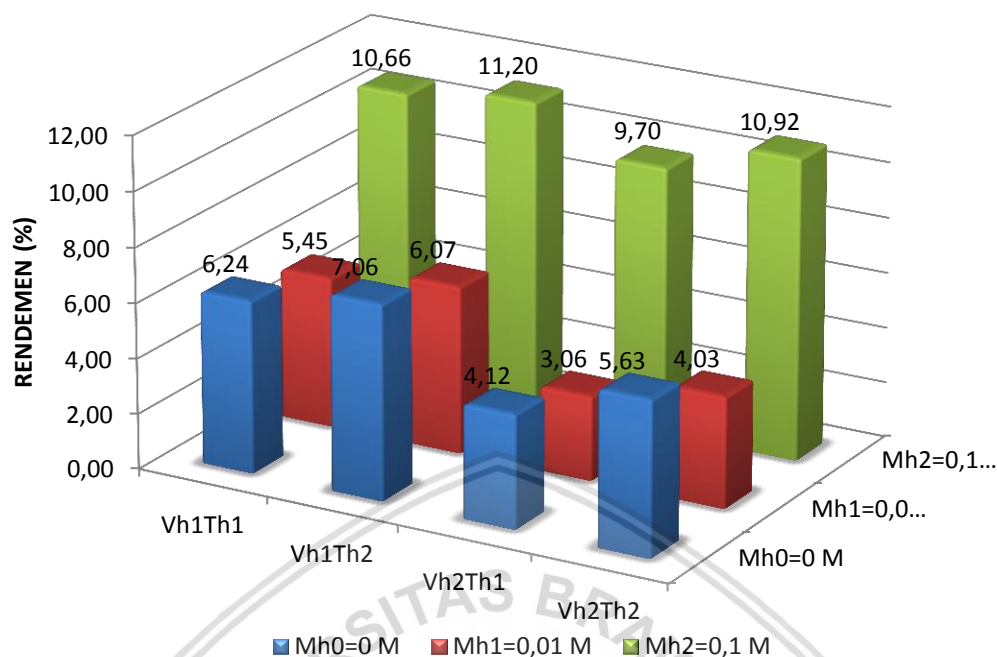


Gambar 5.6 Rendemen minyak mikroalga menggunakan *pretreatment* listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) pada lama paparan yang berbeda

Tabel 5.8 Uji BNT minyak hasil ekstraksi perlakuan molaritas (M_h)

		M_{h1}	M_{h0}	M_{h2}	keterangan
Molaritas (M)		4,65	5,76	10,62	
M_{h1}	4,65	0,00			a
M_{h0}	5,76	1,11	0		b
M_{h2}	10,62	-5,97	-4,85	0	c
BNT M		0,9953			

Hasil penelitian oleh beberapa peneliti yang menggunakan listrik untuk membantu ekstraksi minyak mikroalga memberikan hasil yang berbeda-beda. Flisar *et al.*, (2014) melakukan penelitian menggunakan PEF untuk membantu ekstraksi minyak mikroalga *Chlorella vulgaris*, menggunakan kuat medan listrik 2,7 kV/cm, arus listrik 2 A dan frekuensi 10 Hz secara kontinu dengan lama paparan 100 mikrodetik menghasilkan rendemen minyak 22% berat kering bahan. Eing *et al.* (2013) menggunakan kuat medan listrik sebesar 35 kV/cm untuk ekstraksi mikroalga *Auxenochlorella protothecoides* secara kontinu dengan frekuensi 1-5,5 Hz dan menghasilkan minyak 22% berat kering.



Gambar 5.7 Rendemen minyak mikroalga menggunakan *pretreatment* listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) pada molaritas yang berbeda

Penelitian yang penulis lakukan ada 2 macam, penelitian pertama adalah *pretreatment* terhadap pasta *Nannochloropsis* sp yang diencerkan menggunakan larutan garam NaCl 0-0,1 M. Listrik yang digunakan adalah listrik tegangan menengah dengan kuat medan 3,57- 4,22 kV/cm frekuensi 20 kHz arus listrik 0,11-0,24 A. Lama paparan 30 detik dan 90 detik secara *batch* dan menghasilkan minyak mikroalga dengan rendemen 2,55-7,37% berat kering bahan. Penelitian yang kedua, bahan baku dan pengencernya sama dengan penelitian pertama. Kuat medan listrik 18,33-36,67 V/cm frekuensi 50 Hz. Arus listrik 0,4-10,55 A. Lama paparan 30 detik dan 60 detik secara *batch* dan menghasilkan minyak mikroalga dengan rendemen 3,06-11,20% berat kering bahan.

Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Flisar *et al.* (2014) dan Eing *et al.* (2013) menunjukkan bahwa hasil penelitian yang penulis lakukan berbeda yaitu lebih rendah. Perbedaan hasil ini disebabkan oleh beberapa faktor antara lain dari spesies mikroalga yang digunakan. Setiap spesies mikroalga memiliki karakteristik yang berbeda termasuk ukuran dan bentuk. Ukuran dan bentuk ini mempengaruhi terjadinya elektroporasi membran sel. Faktor lainnya adalah dari desain alat yang digunakan, besarnya tegangan, frekuensi, arus yang digunakan, lama *pretreatment* dan metode ekstraksi pelarut yang berbeda.

Faktor lainnya yang mempengaruhi besarnya rendemen minyak mikroalga yang terekstrak adalah penggunaan metode ekstraksi pelarut dan pelarut yang digunakan. Setiap metode ekstraksi pelarut dan jenis pelarut yang digunakan memberikan hasil yang berbeda-beda. Kombinasi penggunaan pelarut polar dan non polar akan memberikan hasil yang lebih tinggi. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Ryckebosch *et al.* (2011) untuk ekstraksi lipid mikroalga *C. vulgaris* menggunakan 6 campuran pelarut yang berbeda. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa kombinasi pelarut chloroform-methanol 1:1 memberikan hasil yang tertinggi selanjutnya berturut-turut adalah chloroform-methanol 2:1; dichloromethane-ethanol 1:1; acetone; methyl-tert-butyl ether-methanol 10:3; hexane-isopropanol 3:2; dan yang paling rendah adalah diethyl ether.

5.2 Energi *pretreatment*

5.2.1 Perubahan suhu dan arus listrik selama *pretreatment*

Perubahan suhu pada *pretreatment* menggunakan tegangan menengah relatif tidak ada dan jika ada sangat kecil maka bisa diabaikan. Besarnya arus listrik yang mengalir pada *pretreatment* tegangan menengah relatif kecil. Pada tegangan 10,71 kV (V_{p1}) arus listrik yang mengalir sebesar 0,23-0,24 A, pada tegangan 11,20 kV (V_{p2}) arus listrik sebesar 0,17-0,18 A dan pada tegangan 12,66 kV (V_{p3}) arus listrik sebesar 0,11-0,12 A.

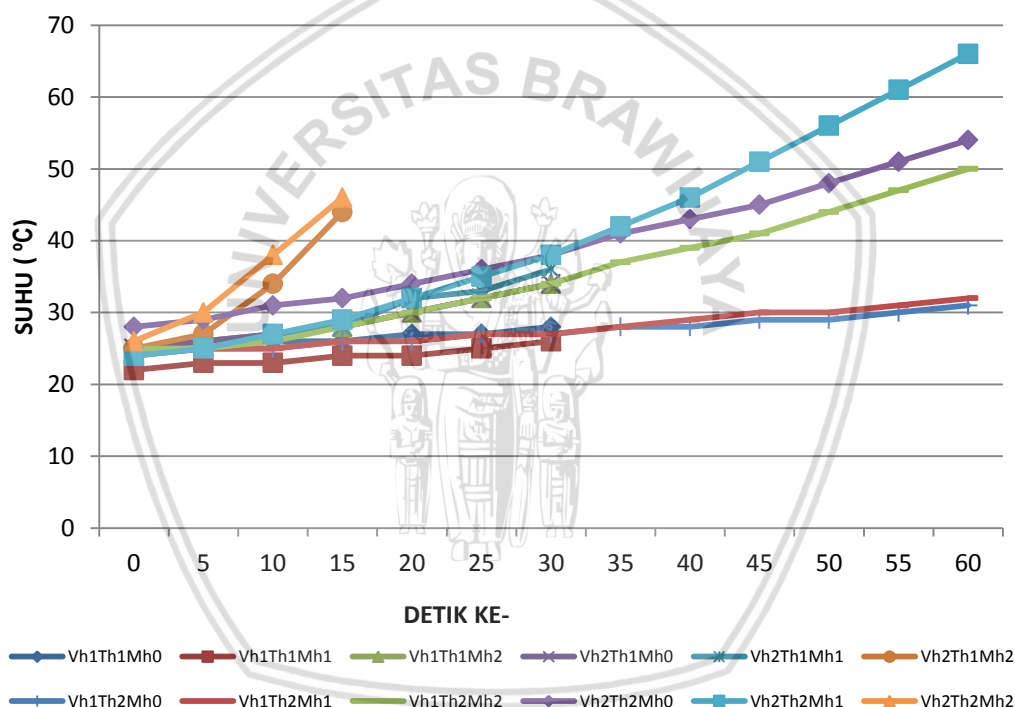
Pretreatment menggunakan tegangan menengah walaupun tegangan cukup tinggi mencapai 12,66 kV dan media yang digunakan mengandung garam NaCl yang bersifat menghantarkan listrik dengan molaritas 0,1 M tetapi arus listrik yang mengalir relatif kecil sehingga perubahan suhu juga relatif kecil dan bisa diabaikan. Menurut Sastry dan Li (1996), bahwa panas yang dibangkitkan berhubungan langsung dengan arus yang diinduksikan oleh perbedaan tegangan dan konduktivitas listrik.

Selama *Pretreatment* menggunakan tegangan rendah (55 V dan 110 V) dalam bentuk *Ohmic Heating* terjadi perubahan suhu pada larutan. Selain perubahan suhu juga terjadi perubahan arus listrik seiring dengan perubahan waktu *treatment*. Grafik perkembangan suhu selama *pretreatment Ohmic Heating* seperti pada Gambar 5.8.

Berdasarkan Gambar 5.8 terlihat bahwa masing-masing perlakuan menunjukkan perubahan suhu yang berbeda. Sampai detik ke-15 menunjukkan bahwa perkembangan suhu tertinggi terjadi pada perlakuan tegangan 110 V dan

molaritas larutan 0,1 M ($V_{h2}T_{h2}M_{h2}$) besarnya suhu 46 °C. Perkembangan suhu sampai dengan detik ke-60 menunjukkan bahwa suhu tertinggi dicapai oleh perlakuan tegangan 110 V dan molaritas larutan 0,01 M ($V_{h2}T_{h2}M_{h1}$) dengan besarnya suhu 66 °C.

Penggunaan tegangan 110 V (V_{h2}) menunjukkan tingkat perubahan yang lebih besar dibanding tegangan 55 V (V_{h1}). Penggunaan tegangan 110 V cenderung memiliki suhu yang lebih tinggi dibanding tegangan 55 V. Dari Gambar 5.8 tersebut juga terlihat bahwa pada tegangan yang sama, molaritas M_{h2} memiliki suhu yang lebih tinggi dibanding molaritas M_{h1} dan molaritas M_{h1} memiliki suhu lebih tinggi dibanding molaritas M_{h0} .



Keterangan: $V_{h1}=55$ V; $V_{h2}=110$ V; $T_{h1}=30$ detk; $T_{h2}=60$ detik; $M_{h0}=0$ M;
 $M_{h1}=0,01$ M; $M_{h2}=0,1$ M

Gambar 5.8 Perkembangan suhu selama *pretreatment Ohmic Heating*

Terjadinya kenaikan suhu larutan pada *pretreatment* tegangan rendah disebabkan oleh arus listrik yang mengalir di dalam larutan yang mengandung ion seperti garam dan asam sehingga arus listrik dapat lewat dan membangkitkan panas (Halden *et al.*, 1990). Semakin tinggi tegangan maka akan semakin besar kecepatan perubahan suhunya. Pada molaritas yang sama

maka tegangan V_{h2} menghasilkan panas yang lebih besar dibanding tegangan V_{h1} . Menurut Sastry dan Li (1996), bahwa panas yang dibangkitkan berhubungan langsung dengan arus yang diinduksikan oleh perbedaan tegangan dan konduktivitas listrik.

Selain dipengaruhi oleh besarnya tegangan, kecepatan perubahan suhu dipengaruhi oleh molaritas larutan. Semakin tinggi molaritas maka akan semakin besar konduktivitas listriknya. Semakin besar konduktivitas maka akan semakin mudah listrik mengalir, hal ini menyebabkan arus listrik yang mengalir semakin besar. Aliran arus listrik yang besar menyebabkan perubahan suhu dengan cepat. Pada tegangan yang sama maka semakin tinggi molaritas larutan maka akan semakin cepat terjadi perubahan suhu. Perubahan suhu selama *Ohmic Heating* dipengaruhi oleh lamanya waktu pemanasan *ohmic*, arus listrik, konduktivitas dan larutan garam NaCl (Varghese *et al.*, 2012).

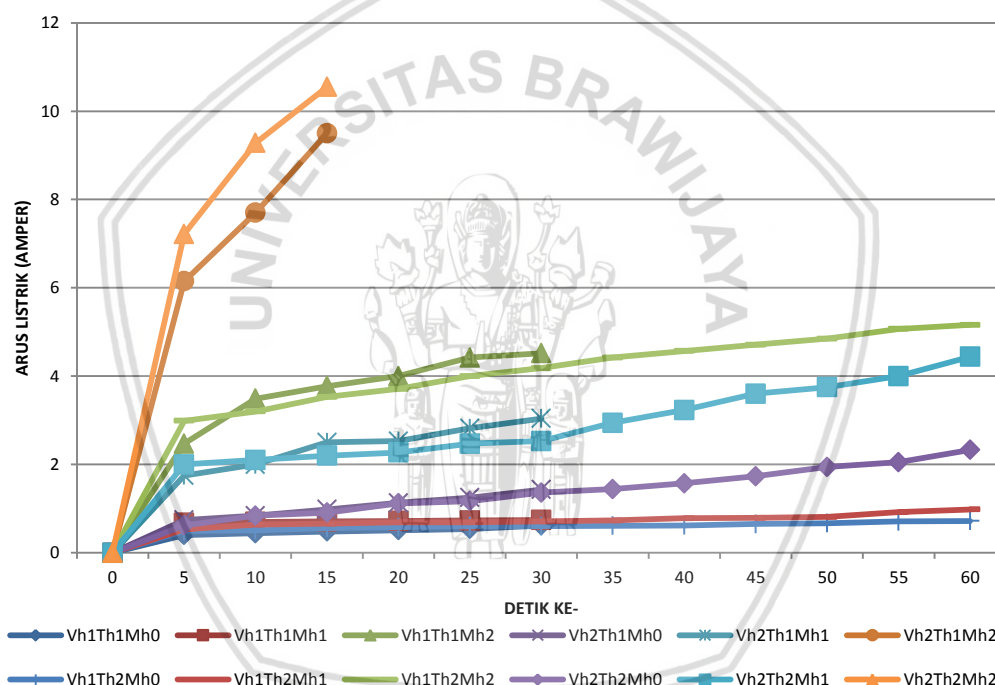
Pengamatan suhu untuk perlakuan tegangan V_{h1} dengan molaritas larutan M_{h0} , M_{h1} dan M_{h2} bisa dilakukan sampai dengan 60 detik. Pengamatan suhu untuk tegangan V_{h2} bisa dilakukan sampai 60 detik untuk molaritas larutan M_{h0} dan M_{h1} sedangkan untuk molaritas M_{h2} hanya bisa dilakukan sampai detik ke-15. Hal ini disebabkan karena pada molaritas M_{h2} arus listrik yang mengalir melewati batas alat ukur sehingga pengukuran suhu dan arus listrik hanya mampu sampai detik ke-15.

Perkembangan arus listrik selama *pretreatment Ohmic Heating* menunjukkan hasil yang berbeda antar perlakuan (Gambar 5.9) Perubahan arus listrik lambat terjadi pada perlakuan tegangan 55 V dan molaritas 0 M ($V_{h1}T_{h2}M_{h0}$) yaitu dalam waktu 60 detik hanya mencapai 0,72 A, selanjutnya diikuti oleh perlakuan tegangan 55 V dan molaritas 0,01 M ($V_{h1}T_{h2}M_{h1}$) mencapai 0,98 A. Perubahan arus listrik agak cepat terjadi pada perlakuan tegangan 110 V dan molaritas larutan 0 M ($V_{h2}T_{h2}M_{h0}$) yaitu dalam waktu 60 detik mencapai 2,33 A. Perubahan arus listrik cepat terjadi pada perlakuan tegangan 110 V dan molaritas larutan 0,01 M ($V_{h2}T_{h2}M_{h1}$) yaitu dalam waktu 60 detik mencapai 4,44 A diikuti oleh perlakuan tegangan 55 V dan molaritas larutan 0,1 M ($V_{h1}T_{h2}M_{h2}$) mencapai 5,16 A. Perubahan arus listrik pada perlakuan tegangan 110 V dan molaritas 0,1 M ($V_{h2}T_{h2}M_{h2}$) berjalan sangat cepat yaitu dalam waktu 15 detik telah mencapai 10,55 A.

Pada tegangan yang sama, perubahan arus listrik dipengaruhi oleh molaritas larutan. Semakin tinggi molaritas maka konduktivitasnya meningkat.

Semakin meningkatnya konduktivitas maka menyebabkan arus listrik yang mengalir semakin besar. Arus listrik yang besar jika mengalir maka akan menimbulkan panas yang sangat cepat. Sebaliknya jika molaritas rendah seperti pada larutan dengan molaritas 0 M (M_{h0}) maka konduktivitasnya rendah. Jika konduktivitas rendah maka arus yang mengalir sedikit dan panas yang ditimbulkan juga lambat.

Pada molaritas yang sama maka perubahan arus listrik dipengaruhi oleh besarnya tegangan. Semakin tinggi tegangan maka perubahan arus listrik yang mengalir juga besar, sebaliknya jika tegangannya rendah maka perubahan arus listrik yang mengalir juga rendah. Perubahan arus listrik yang mengalir seiring dengan perubahan suhu pada larutan.



Keterangan: $V_{h1}=55$ V; $V_{h2}=110$ V; $T_{h1}=30$ detk; $T_{h2}=60$ detik;
 $M_{h0}=0$ M; $M_{h1}=0,01$ M; $M_{h2}=0,1$ M

Gambar 5.9. Perkembangan arus listrik selama *pretreatment Ohmic Heating*

Pada perlakuan $V_{h2}T_{h2}M_{h2}$, perubahan arus listrik berjalan sangat cepat karena tegangan yang digunakan cukup besar yaitu 110 V dan molaritas larutan cukup tinggi yaitu 0,1 M. Akibatnya dalam waktu hanya 15 detik perubahan arus mencapai lebih dari 10 A (diluar batas alat ukur). Oleh karena itu pengukuran arus listrik tidak bisa dilanjutkan. Perubahan arus ini sejalan dengan perubahan

suhu yaitu dalam waktu 15 detik telah mencapai 46 °C sedangkan perlakuan lainnya hanya mencapai suhu 32 °C.

5.2.2 Konsumsi energi *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah

Besarnya energi listrik untuk *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah dari masing-masing perlakuan seperti pada Tabel 5.9 dan Lampiran 4. Besarnya energi berkisar antara 767,8-4613,4 J. Kebutuhan energi terbesar dibutuhkan oleh perlakuan tegangan 10,71 kV, lama paparan 90 detik dan molaritas larutan 0,1 M ($V_{p1}T_{p2}M_{p1}$) sedangkan energi terendah pada kombinasi perlakuan tegangan 12,66 kV, lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0 M ($V_{p3}T_{p1}M_{p0}$).

Tabel 5.9 Energi per *pretreatment* gram minyak menggunakan listrik tegangan menengah

Kode	Rendemen minyak (%)	Rendemen minyak (g)	Energi (J)	Energi per gram minyak (kJ/g)
$V_{p1}T_{p1}M_{p0}$	5,6	0,28	1,522,4	5,44
$V_{p1}T_{p1}M_{p1}$	7,37	0,37	1,537,8	4,17
$V_{p1}T_{p2}M_{p0}$	2,66	0,13	4,488,0	33,74
$V_{p1}T_{p2}M_{p1}$	4,35	0,22	4,613,4	21,21
$V_{p2}T_{p1}M_{p0}$	6,01	0,30	831,6	2,77
$V_{p2}T_{p1}M_{p1}$	6,76	0,34	1,095,6	3,24
$V_{p2}T_{p2}M_{p0}$	4,07	0,20	3,346,2	16,44
$V_{p2}T_{p2}M_{p1}$	5,02	0,25	3,405,6	13,57
$V_{p3}T_{p1}M_{p0}$	5,36	0,27	767,8	2,86
$V_{p3}T_{p1}M_{p1}$	6,09	0,30	772,2	2,54
$V_{p3}T_{p2}M_{p0}$	2,55	0,13	2,178,0	17,08
$V_{p3}T_{p2}M_{p1}$	3,79	0,19	2,237,4	11,81

Keterangan: V_{p1} =10,71 kV (E =3,57 kV/cm); V_{p2} =11,2 kV (E =3,73 kV/cm);
 V_{p3} =12,66 kV (E =4,22 kV/cm); BNT 0,05= 0,7144

Energi listrik merupakan perkalian antara tegangan, arus dan lama arus itu mengalir. Pada *pretreatment* menggunakan listrik tegangan rendah, besarnya tegangan dan arus listrik yang mengalir relatif tetap. Besarnya energi dipengaruhi oleh tegangan, arus dan waktu. Semakin besar tegangan yang digunakan maka akan semakin besar energi yang digunakan, demikian juga jika besarnya arus listrik dan lama paparan semakin besar maka akan semakin besar energi yang diperlukan.

Besarnya arus listrik yang mengalir pada masing-masing tegangan untuk *pretreatment* berbeda-beda. Urutan dari terbesar ke terkecil berturut-turut adalah 0,23-0,24 A untuk tegangan 10,71 kV (V_{p1}), 0,17-0,18 A untuk tegangan 11,20 kV (V_{p2}) dan 0,11-0,12 A untuk tegangan 12,66 kV (V_{p3}). Besarnya arus listrik dipengaruhi oleh besarnya tegangan. Sesuai dengan prinsip kerja transformator, dengan asumsi tidak ada rugi daya maka besarnya daya pada sisi primer dan sisi sekunder trafo adalah sama. Daya adalah perkalian arus dengan tegangan. Jika daya pada sisi primer tetap dengan nilai tegangan dan arus tetap maka jika nilai tegangan sisi sekunder dinaikkan maka nilai arus akan turun demikian sebaliknya.

Besarnya energi pada kombinasi tegangan 10,71 kV, lama paparan 90 detik dan molaritas larutan 0,1 M lebih dominan dipengaruhi oleh lama paparan dibandingkan besarnya arus. Energi pada kombinasi perlakuan tegangan 12,66 kV, lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0 M memberikan hasil paling rendah karena lama paparan yang lebih singkat dan arus yang mengalir juga lebih kecil.

Besarnya energi listrik per gram minyak untuk *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah dari masing-masing perlakuan seperti pada Tabel 5.9. Besarnya energi berkisar antara 2,54-33,74 kJ/g. Kebutuhan energi per gram minyak terbesar dibutuhkan oleh perlakuan tegangan 10,71 kV, lama paparan 90 detik dan molaritas larutan 0 M ($V_{p1}T_{p2}M_{p0}$) sedangkan energi terendah pada kombinasi perlakuan tegangan 12,66 kV, lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0,1 M ($V_{p3}T_{p1}M_{p1}$).

Penggunaan tegangan listrik bertujuan untuk membantu meningkatkan hasil ekstraksi dengan cara membuat sel menjadi berpori atau terjadinya proses elektroporasi. Hasil studi berkaitan dengan parameter pulsa listrik menunjukkan bahwa elektroporasi tidak terkait dengan total energi listrik yang dikirimkan (Vernhes *et al.*, 1999). Penggunaan tegangan listrik lebih berhubungan dengan luas daerah elektroporasi membran dengan tingkat elektroporasi yang lebih kecil, sedangkan peningkatan jumlah pulsa atau lama paparan akan meningkatkan tingkat elektroporasi (Rols, 2006).

5.2.3 Konsumsi energi *pretreatment* menggunakan listrik tegangan rendah

Perkembangan konsumsi energi selama *pretreatment* menggunakan listrik tegangan rendah seperti pada Tabel 5.10. Konsumsi energi *pretreatment* listrik

tegangan rendah bervariasi antara 737-18.321 J. Konsumsi energi terbesar pada perlakuan tegangan 110 V lama paparan 60 detik dan molaritas larutan 0,01 M ($V_{h2}T_{h2}M_{h1}$) sedangkan paling rendah terjadi pada perlakuan tegangan 55 V lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0 M ($V_{h1}T_{h1}M_{h0}$).

Konsumsi energi listrik ditentukan oleh besarnya tegangan, arus listrik dan waktu (Lampiran 5). Pada *pretreatment* menggunakan tegangan rendah, besarnya arus listrik berubah menjadi lebih besar seiring dengan bertambahnya waktu. Energi dihitung pada setiap pengamatan arus. Pada *pretreatment* tegangan rendah ini energi terbesar pada perlakuan tegangan 110 V lama paparan 60 detik dan molaritas larutan 0,01 M. Besarnya energi dipengaruhi oleh besar tegangan yaitu 110 dan lama paparan 60 detik. Selain kedua faktor tersebut besarnya energi dipengaruhi oleh arus listrik yang mencapai 4,44 A. Energi terendah pada perlakuan tegangan 55 V lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0 M. Energi yang rendah ini disebabkan oleh penggunaan tegangan yang kecil yaitu 55 V, lama paparan hanya 30 detik dan arus listrik yang mengalir maksimal 0,62 A. Semakin kecil tegangan, semakin singkat lama paparan dan semakin rendah arus yang mengalir maka energinya akan semakin kecil.

Tabel 5.10 Energi *pretreatment* per gram minyak menggunakan listrik tegangan rendah

Kode	Rendemen minyak (%)	Rendemen minyak (g)	Energi (J)	Energi per gram minyak (kJ/g)
$V_{h1}T_{h1}M_{h0}$	6,24	0,31	737	2,36
$V_{h1}T_{h1}M_{h1}$	5,45	0,27	1.075	3,94
$V_{h1}T_{h1}M_{h2}$	10,66	0,53	5.613	10,53
$V_{h1}T_{h2}M_{h0}$	7,06	0,35	1.914	5,42
$V_{h1}T_{h2}M_{h1}$	6,07	0,30	2.321	7,65
$V_{h1}T_{h2}M_{h2}$	11,20	0,56	13.148	23,49
$V_{h2}T_{h1}M_{h0}$	4,12	0,21	3.110	15,09
$V_{h2}T_{h1}M_{h1}$	3,06	0,15	7.216	47,21
$V_{h2}T_{h1}M_{h2}$	9,70	0,49	10.230	21,09
$V_{h2}T_{h2}M_{h0}$	5,63	0,28	8.753	31,10
$V_{h2}T_{h2}M_{h1}$	4,03	0,20	18.321	90,92
$V_{h2}T_{h2}M_{h2}$	10,92	0,55	11.976	21,93

Keterangan: V_{h1} =55 V; V_{h2} =110 V; T_{h1} =30 detk; T_{h2} =60 detik;
 M_{h0} =0 M; M_{h1} =0,01 M; M_{h2} =0,1 M

Kebutuhan energi *pretreatment* per gram minyak hasil ekstraksi paling besar pada perlakuan tegangan 110 V lama paparan 60 detik dan molaritas larutan 0,01 M ($V_{h2}T_{h2}M_{h1}$) sebesar 90,92 kJ/g sedangkan paling rendah pada perlakuan tegangan 55 V lama paparan 30 detik dan molaritas larutan 0 M ($V_{h1}T_{h1}M_{h0}$) sebesar 2,36 kJ/g. Semakin besar energi yang diperlukan maka akan semakin besar biaya yang dikeluarkan untuk proses *pretreatment*.

Penggunaan tegangan listrik bertujuan untuk membantu meningkatkan hasil ekstraksi dengan cara membuat sel menjadi berpori atau terjadinya proses elektroporasi. Hasil studi berkaitan dengan parameter pulsa listrik menunjukkan bahwa elektroporasi tidak terkait dengan total energi listrik yang dikirimkan (Vernhes *et al.*, 1999). Penggunaan tegangan listrik lebih berhubungan dengan luas daerah elektroporasi membran dengan tingkat elektroporasi yang lebih kecil, sedangkan peningkatan jumlah pulsa atau lama paparan akan meningkatkan tingkat elektroporasi (Rols, 2006).

Besarnya energi pada *pretreatment* menggunakan listrik tegangan rendah lebih dominan dipengaruhi oleh arus listrik. Besarnya arus listrik semakin besar seiring dengan bertambahnya lama paparan. Perkembangan energi listrik tegangan rendah selama *pretreatment* seperti pada Gambar 5.10 dan Lampiran 5 sedangkan perubahan arus listrik selama 15 detik seperti pada Tabel 5.11. Pada Tabel tersebut hanya disajikan sampai detik ke 15, karena pada tegangan yang lebih tinggi yaitu 110 V arus listrik yang melewati cukup besar diluar kemampuan alat ukur amper meter.

Berdasarkan Tabel 5.11 terlihat bahwa perubahan arus terbesar selama 15 detik terjadi pada perlakuan dengan kombinasi tegangan 110 V (V_{h2}) dan molaritas 0,1 M (M_{h2}) rata-rata 10,3 A sedangkan perubahan terkecil terjadi pada perlakuan yang menggunakan tegangan 55 V (V_{h1}) dan molaritas 0 (M_{h0}) rata-rata 0,52 A. Selain itu perubahan arus listrik rata-rata antara penggunaan tegangan 55 V (V_{h1}) dan 110 V (V_{h2}) menunjukkan adanya perbedaan. Penggunaan tegangan 110 V menghasilkan perubahan arus listrik yang lebih besar dibandingkan 110 V.

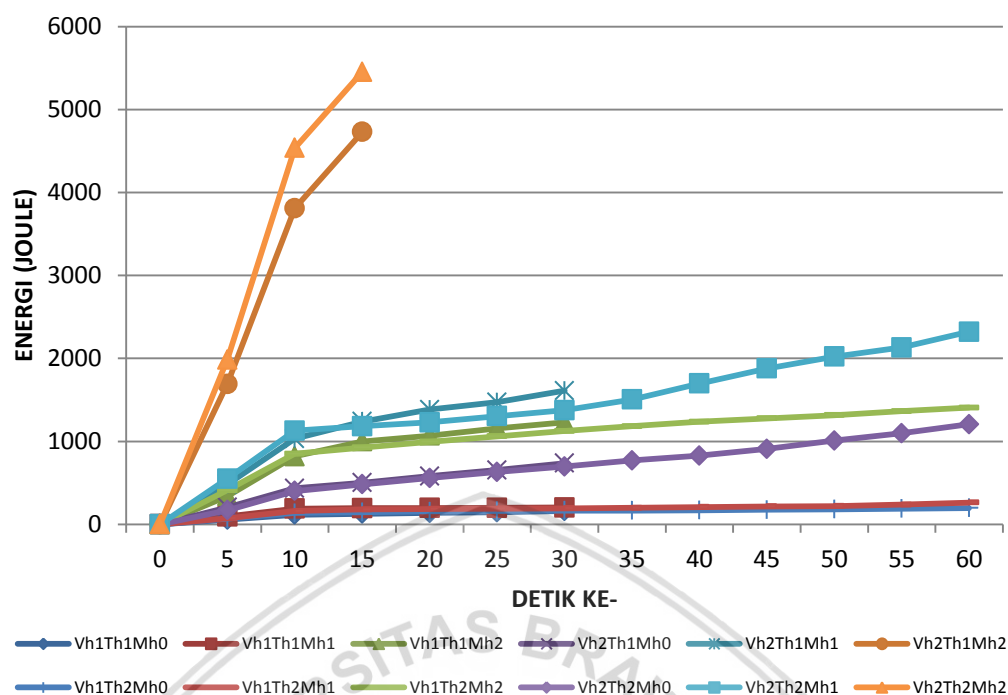
Tabel 5.11 Perubahan arus listrik selama 15 detik selama *pretreatment*

KODE	Arus listrik (A)				Perubahan arus (A)	Perubahan arus rata2 (A)
	0 detik	5 detik	10 detik	15 detik		
$V_{h1}T_{h1}M_{h0}$	0,00	0,40	0,44	0,48	0,48	0,52
$V_{h1}T_{h2}M_{h0}$	0,00	0,49	0,51	0,56	0,56	
$V_{h1}T_{h1}M_{h1}$	0,00	0,68	0,70	0,71	0,71	0,69
$V_{h1}T_{h2}M_{h1}$	0,00	0,53	0,64	0,66	0,66	
$V_{h1}T_{h1}M_{h2}$	0,00	2,47	3,49	3,77	3,77	3,65
$V_{h1}T_{h2}M_{h2}$	0,00	2,99	3,20	3,53	3,53	
$V_{h2}T_{h1}M_{h0}$	0,00	0,74	0,84	0,98	0,98	0,95
$V_{h2}T_{h2}M_{h0}$	0,00	0,62	0,84	0,91	0,91	
$V_{h2}T_{h1}M_{h1}$	0,00	1,75	2,00	2,50	2,50	2,35
$V_{h2}T_{h2}M_{h1}$	0,00	2,00	2,10	2,20	2,20	
$V_{h2}T_{h1}M_{h2}$	0,00	6,15	7,70	9,50	9,50	10,03
$V_{h2}T_{h2}M_{h2}$	0,00	7,22	9,28	10,55	10,55	

Perubahan arus listrik untuk lama paparan yang sama pada *pretreatment* menggunakan tegangan rendah dalam bentuk *Ohmic Heating* dipengaruhi oleh tegangan dan molaritas larutan. Semakin tinggi tegangan maka semakin besar arus yang mengalir dan semakin tinggi molaritas larutan maka akan semakin tinggi konduktivitasnya sehingga aliran arus listriknya semakin besar. Pada penelitian ini larutan yang digunakan adalah NaCl yang memiliki sifat menghantarkan listrik.

Pada tegangan yang sama, besarnya energi dipengaruhi oleh molaritas larutan. Semakin tinggi molaritas maka konsumsi energi semakin besar, hal ini berkaitan dengan semakin besarnya arus listrik yang mengalir. Molaritas larutan M_{h2} memberikan energi yang lebih besar dibandingkan molaritas M_{h1} dan M_{h0} .

Pada molaritas yang sama maka besarnya energi listrik dipengaruhi oleh besarnya tegangan. Pada tegangan yang lebih besar menghasilkan energi lebih besar. Energi pada tegangan 110 V (V_{h2}) lebih besar dibandingkan 55 V (V_{h1}). Peningkatan konsumsi energi yang drastis terjadi pada perlakuan tegangan 110 V (V_{h2}) dan molaritas larutan 0,1 M (M_{h2}).



Keterangan: $V_{h1}=55$ V; $V_{h2}=110$ V; $T_{h1}=30$ detk; $T_{h2}=60$ detik; $M_{h0}=0$ M;
 $M_{h2}=0,01$ M; $M_{h2}=0,1$ M

Gambar 5.10. Perkembangan konsumsi energi selama *pretreatment Ohmic Heating*

Besarnya konsumsi energi pada *pretreatment* menggunakan listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) dipengaruhi oleh besarnya tegangan, molaritas larutan dan lama *treatment*. Semakin besar tegangan yang digunakan maka semakin besar konsumsi energinya. Semakin tinggi molaritas larutan maka akan semakin tinggi konduktivitasnya dan arus listrik yang mengalir semakin besar sehingga konsumsi energi juga meningkat. Semakin lama pemberian aliran listrik pada larutan maka akan semakin besar konsumsi energinya. Besarnya energi listrik dipengaruhi oleh besarnya tegangan, arus listrik dan waktu.

5.3 Kandungan minyak mikroalga

Minyak yang digunakan sebagai bahan baku biodiesel akan mempengaruhi kualitas biodiesel. Faktor bahan baku minyak yang berpengaruh adalah kadar asam lemak bebas (FFA). FFA minyak mikroalga, salah satunya dipengaruhi oleh proses pengeringan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Balasubramanian (2013) menunjukkan bahwa kadar asam lemak bebas dipengaruhi oleh proses pengeringan. Pengeringan menggunakan *freeze drying*

menghasilkan FFA 4,0 mg/g berat kering atau 0,4%, pengeringan dengan oven menghasilkan FFA sebesar 6,8 mg/g berat kering atau 0,68% dan pengeringan matahari menghasilkan FFA 19 mg/g atau 1,9%. Pada penelitian ini pengeringan dilakukan menggunakan oven dengan suhu pengeringan antara 60-70 °C sehingga jika mengacu pada hasil penelitian Balasubramanian (2013) maka minyak yang dihasilkan memiliki kadar FFA <1%.

Menurut Canakci and Van Gerpen (2001), bahwa transesterifikasi tidak akan terjadi jika kandungan FFA minyak sekitar 3%. Kadar FFA minyak diatas 1% akan menurunkan tingkat rendemen yang dihasilkan dan meningkatkan pembentukan sabun, sehingga proses pemisahan biodiesel dan gliserol menjadi sulit (Tiwari *et al.*, 2007). Minyak dengan kandungan FFA tinggi jika digunakan sebagai bahan baku biodiesel maka harus dimurnikan dahulu menggunakan proses esterifikasi asam setelah itu dilanjutkan dengan transesterifikasi alkali.

Hasil ekstraksi mikroalga berupa minyak dan bahan aktif lainnya. Komponen yang terkandung dalam minyak hasil ekstraksi terdiri dari beberapa macam asam lemak. Selain itu juga mengandung bahan yang dapat digunakan untuk kosmetik, farmasi maupun konsumsi sebagai suplemen kesehatan. Untuk mengetahui kandungan minyak mikroalga dilakukan analisa GC-MS.

Hasil analisa GC-MS (Tabel 5.12) menunjukkan bahwa *Nannochloropsis* sp mengandung berbagai asam lemak yang dapat digunakan untuk berbagai keperluan termasuk sebagai bahan baku biodiesel. Selain itu juga mengandung senyawa kimia penting lain sebagai suplemen bahan pangan dan farmasi seperti DHA dan EPA.

Jumlah dan komposisi asam lemak dari *Nannochloropsis* sp berbeda-beda. Seperti hasil penelitian Zittelli *et al.* (1999) menyampaikan bahwa ada 7 asam lemak dari *Nannochloropsis* sp yang kadarnya > 3% yaitu : Myristic acid, Palmitoleic acid, Palmitic acid, Linolenic acid, Oleic acid, Arachidonic acid, dan Eicosadienoic acid.

Beberapa faktor dapat mempengaruhi produksi dan komposisi mikroalga. Kandungan, komposisi asam lemak dan rendemen minyak mikroalga dipengaruhi oleh spesies, kondisi pertumbuhan dan musim (Olofsson, 2012). Pada kondisi nutrisi terbatas, lemak total dapat meningkat dan lebih banyak disimpan dalam bentuk trigliserida. Kondisi stress menyebabkan terjadi perubahan komposisi asam lemak (Rodolfi *et al.*, 2009). Kadar garam (Takagi *et al.*, 2006) dan CO₂ (Chiu *et al.*, 2009) juga mempengaruhi kandungan dan komposisi lemak.

Tabel 5.12. Asam lemak dalam minyak *Nannochloropsis* sp hasil analisa GC-MS

No	Komponen	Rumus	Komposisi (%)
1	Isovaleric acid	$C_5H_{10}O_2$	0,56
2	Hexanoic acid	$C_6H_{12}O_2$	0,84
3	Octanoic acid	$C_8H_{16}O_2$	1,25
4	Nonanoic acid	$C_9H_{18}O_2$	0,78
5	Decanoic acid	$C_{10}H_{20}O_2$	1,30
6	Undecanoic acid	$C_{11}H_{22}O_2$	0,54
7	Dodecanoic acid	$C_{12}H_{24}O_2$	0,54
8	Tridecanoic acid	$C_{13}H_{26}O_2$	0,38
9	Myristic acid	$C_{14}H_{28}O_2$	2,51
10	Palmitoleic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	5,16
11	Palmitic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	3,24
12	Heptadecanoic acid	$C_{17}H_{34}O_2$	1,39
13	Stearidonic acid	$C_{18}H_{28}O_2$	5,09
14	α Linolenic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	11,84
15	γ Linolenic acid	$C_{18}H_{30}O_2$	6,58
16	Linolenic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	8,02
17	Oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	3,78
18	Octadecanoic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	2,37
19	Nonadecanoic acid	$C_{19}H_{38}O_2$	1,55
20	Eicosapentaenoic acid	$C_{20}H_{30}O_2$	10,11
21	Arachidonic acid	$C_{20}H_{32}O_2$	5,06
22	Eicosatetraenoic acid	$C_{20}H_{32}O_2$	4,91
23	Eicosadienoic acid	$C_{20}H_{36}O_2$	3,77
24	Gondoic acid	$C_{20}H_{38}O_2$	2,94
25	Docosahexaenoic acid	$C_{22}H_{32}O_2$	7,59
26	Erucic acid	$C_{22}H_{42}O_2$	0,96
27	Tetracosanoic acid	$C_{24}H_{48}O_2$	1,82
28	β Sitosterol	$C_{29}H_{50}O$	0,72
29	γ Tocopherol	$C_{28}H_{48}O_2$	0,56
30	α Tocopherol	$C_{29}H_{50}O_2$	1,82
31	β Carotene	$C_{40}H_{56}$	2,01
Total			100

5.4 Perbandingan *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah dan listrik tegangan rendah

Perlakuan yang digunakan untuk *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah dan tegangan rendah jumlahnya sama yaitu 12 kombinasi. Kombinasi dari perlakuan listrik tegangan menengah dan listrik tegangan rendah berbeda.

Tanpa memperhatikan kombinasi perlakuan, secara umum rendemen minyak yang dihasilkan oleh *pretreatment* menggunakan tegangan menengah lebih kecil dibandingkan tegangan rendah. Rendemen minyak mikroalga menggunakan tegangan menengah berkisar antara 2,55-7,37% sedangkan rendemen minyak menggunakan tegangan rendah berkisar antara 3,06-11,20%. Minyak hasil ekstraksi ini dipengaruhi oleh proses *pretreatment*, dimana tujuan *pretreatment* adalah untuk membuat sel menjadi berpori atau terjadi elektroporasi sehingga isi sel mudah untuk dikeluarkan.

Proses elektroporasi yang berlebihan pada *pretreatment* mikroalga akan kurang menguntungkan. Elektroporasi yang berlebihan menyebabkan isi sel akan keluar dan bercampur dengan larutan. Hal ini akan menyebabkan sebagian minyak yang sudah keluar akan bercampur dengan larutan dan hilang pada proses selanjutnya. Jika dibandingkan dengan hasil ekstraksi minyak mikroalga tanpa perlakuan *pretreatment* maka ada beberapa perlakuan yang memberikan rendemen lebih rendah. Rendemen minyak tanpa perlakuan sebesar 3,45% sedangkan dengan perlakuan *pretreatment* tegangan menengah ada yang rendemennya 2,55% dan menggunakan tegangan rendah 3,06%.

Secara umum ekstraksi minyak mikrolaga dengan *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah dan tegangan rendah memberikan hasil yang lebih besar dibandingkan tanpa perlakuan. Tetapi ada perlakuan dengan *pretreatment* memberikan hasil yang lebih rendah yang terjadi antara *pretreatment* tegangan menengah dan tegangan rendah. Diduga hal ini disebabkan terjadinya kerusakan membran sel mikrolaga yang lebih besar (*hyper elctroporation*) akibat penggunaan tegangan listrik yang lebih besar, sehingga lipid keluar dan bercampur dengan cairan selanjutnya hilang saat proses pengeringan. Antara perlakuan *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah dan listrik tegangan rendah menunjukkan bahwa penggunaan tegangan rendah dapat memberikan hasil minyak yang lebih tinggi yaitu 11,20%.

Pretreatment tegangan menengah menggunakan frekuensi yang tinggi yaitu 20 kHz sedangkan *pretreatment* menggunakan tegangan rendah frekuensinya 50 Hz. Salah faktor yang mempengaruhi terjadinya elektroporasi adalah dari faktor frekuensi. Semakin tinggi frekuensi maka akan semakin pendek jeda antara dua pulsa, hal ini mempengaruhi terjadinya proses elektroporasi.

Ketika pulsa diterapkan dengan frekuensi pengulangan yang tinggi yaitu di atas 1 kHz maka jeda antara dua pulsa berturut-turut terlalu pendek dan hal ini tidak memungkinkan membran sel untuk kembali ke keadaan pra-pulsa. Elektroporasi membran sel optimal pada rentang frekuensi 0,5-10 Hz dan menurun pada frekuensi yang lebih tinggi (Vernhes *et al.*, 1999; pucihar *et al.*, 2002; Pavlin *et al.*, 2005).

Energi *pretreatment* per berat minyak seperti pada Tabel 5.13. Berdasarkan tabel tersebut energi *pretreatment* per kg minyak untuk tegangan menengah sebesar 2.536-33.744 kJ/kg dan untuk tegangan rendah 2.361-90.921 kJ/kg. Faktor yang mempengaruhi besarnya energi listrik untuk *pretreatment* adalah besarnya tegangan, besarnya arus listrik dan lama paparan. Semakin besar tegangan, arus listrik dan lama paparan maka akan semakin besar energinya.

Tabel 5.13 Energi *pretreatment* per berat minyak antara tegangan menengah dan tegangan rendah

KODE	Tegangan menengah (kJ/kg)	KODE	Tegangan rendah (kJ/kg)
$V_{p3}T_{p1}M_{p1}$	2.536	$V_{h1}T_{h1}M_{h0}$	2.361
$V_{p2}T_{p1}M_{p0}$	2.767	$V_{h1}T_{h1}M_{h1}$	3.943
$V_{p3}T_{p1}M_{p0}$	2.865	$V_{h1}T_{h2}M_{h0}$	5.420
$V_{p2}T_{p1}M_{p1}$	3.241	$V_{h1}T_{h2}M_{h1}$	7.652
$V_{p1}T_{p1}M_{p1}$	4.173	$V_{h1}T_{h1}M_{h2}$	10.534
$V_{p1}T_{p1}M_{p0}$	5.437	$V_{h2}T_{h1}M_{h0}$	15.086
$V_{p3}T_{p2}M_{p1}$	11.807	$V_{h2}T_{h1}M_{h2}$	21.093
$V_{p2}T_{p2}M_{p1}$	13.568	$V_{h2}T_{h2}M_{h2}$	21.928
$V_{p2}T_{p2}M_{p0}$	16.443	$V_{h1}T_{h2}M_{h2}$	23.485
$V_{p3}T_{p2}M_{p0}$	17.082	$V_{h2}T_{h2}M_{h0}$	31.095
$V_{p1}T_{p2}M_{p1}$	21.211	$V_{h2}T_{h1}M_{h1}$	47.215
$V_{p1}T_{p2}M_{p0}$	33.744	$V_{h2}T_{h2}M_{h1}$	90.921

Keterangan:

$V_{p1}=10,71$ kV ($E=3,57$ kV/cm); $V_{p2}=11,2$ kV($E=3,73$ kV/cm); $V_{p3}=12,66$ kV ($E=4,22$ V/cm); $V_{h1}=55$ V (18,33 V/cm); $V_{h2}=110$ V (36,67 V/cm); $T_{p1}=30$ detk; $T_{p2}=90$ detik; $T_{h1}=30$ detk; $T_{h2}=60$ detik; $M_{p0}=0$ M; $M_{p1}=0,1$ M; $M_{h0}=0$ M; $M_{h1}=0,01$ M; $M_{h2}=0,1$ M

Dari beberapa kombinasi perlakuan yang telah dilakukan pada penelitian ini maka jika akan memanfaatkan listrik tegangan menengah untuk *pretreatment* sebaiknya dipilih yang memerlukan energi paling rendah yaitu kombinasi perlakuan tegangan 10,71 kV lama paparan 30 detik dan molaritas larutan NaCl 0,1 M ($V_{p3}T_{p1}M_{p1}$) sebesar 2.536 kJ/kg. Pada *pretreatment* menggunakan tegangan rendah sebaiknya dipilih kombinasi perlakuan tegangan 55 V lama paparan 30 detik dan molaritas larutan NaCl 0,01 M ($V_{h1}T_{h1}M_{h0}$).

Hasil interpolasi polinom Newton (Lampiran 6) dari data pada Tabel 5.13 seperti pada Tabel 5.14. Berdasarkan tabel tersebut jika *pretreatment* tegangan menengah dan tegangan rendah diberikan energi listrik yang sama tanpa memperhatikan kombinasi perlakuan, menghasilkan rendemen minyak yang berbeda. Jika diberikan energi yang lebih besar yaitu sebesar 2.000 kJ, 3.000 kJ dan 4.000 kJ menunjukkan bahwa *pretreatment* menggunakan tegangan rendah memberikan rendemen minyak yang lebih besar.

Tabel 5.14 Perbandingan energi *pretreatment* per kg minyak mikroalga antara tegangan menengah dan tegangan rendah

Energi <i>pretreatment</i> (kJ)	Rendemen minyak (kg)	
	Tegangan menengah	Tegangan rendah
2000	340	350
3000	160	220
4000	200	290

Penggunaan listrik tegangan menengah sebagai metode *pretreatment* memiliki karakteristik yang berbeda dengan listrik tegangan rendah. Penggunaan listrik tegangan menengah lebih cenderung kepada kekuatan tegangan untuk merusak membran sel sedangkan listrik tegangan rendah selain adanya pengaruh tegangan yang rendah juga adanya panas yang ditimbulkan akibat arus listrik yang cukup besar. Penggunaan tegangan menengah dan tegangan rendah memiliki kemampuan dalam merusak sel atau terjadinya elektroporasi dengan hasil yang tidak sama.

Terjadinya elektroporasi atau membran sel menjadi berpori merupakan hal yang menguntungkan dalam proses ekstraksi minyak mikroalga. Minyak mikroalga berada di dalam sel. Penggunaan listrik tegangan menengah (10,71-12,66 kV) yang dipaparkan ke sel mikroalga akan membuat sel menjadi berpori.

Pada listrik tegangan menengah, semakin besar tegangan yang digunakan maka akan membuat pori semakin luas.

Pada penggunaan tegangan rendah, tegangan yang digunakan hanya 55 V dan 110 V sehingga proses terjadi elektroporasi lebih cenderung dipengaruhi oleh panas yang ditimbulkan akibat arus listrik yang cukup besar dan lama paparan. Dengan meningkatnya suhu media termasuk sel mikroalga maka membran sel akan semakin mudah untuk terjadinya pori walaupun tegangan listrik yang digunakan cukup rendah.

Penggunaan listrik dalam membantu proses ekstraksi minyak mikroalga dengan cara membuat sel menjadi berpori atau dikenal dengan istilah elektroporasi. Selama suspensi sel hidup berada dimedan listrik, potensial listrik akan melewati membran sel tersebut. Berdasarkan sifat dipol dari molekul membran, tegangan listrik memisahkan molekul sesuai dengan muatannya dimembran sel. Setelah melebihi nilai kritis sekitar 1 V potensi transmembran, tolakan terjadi antara muatan yang membawa molekul yang membentuk pori-pori di daerah lemah membran dan menyebabkan peningkatan permeabilitas drastis (Bryant and Wolfe, 1987). Keberhasilan perlakuan (*treatment*) sangat tergantung pada besarnya tegangan (kekuatan medan listrik), input energi, lama paparan, suhu perlakuan dan sifat bahan yang diberi perlakuan (Heinz *et al.*, 2003).

5.5 Kebaruan penelitian

Penggunaan aliran listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*) untuk membantu meningkatkan hasil ekstraksi telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Beberapa penelitian yang menggunakan *Ohmic Heating* antara lain ekstraksi pewarna bit dari tanaman bit (Halden *et al.*, 1990; Schreier *et al.*, 1993), ekstraksi jus apel dari buah apel (Lima *et al.*, 1999), ekstraksi minyak dedak padi dan zat bioaktif dari dedak padi (Lakkakula *et al.*, 2004), ekstraksi minyak dari dedak padi (Nair *et al.*, 2012), ekstraksi polifenol dari anggur merah pomace (Darra *et al.*, 2013) dan ekstraksi pewarna makanan dari bekatul beras hitam (Loypimai *et al.*, 2015).

Pada saat penyusunan proposal sampai dengan penyusunan laporan, penggunaan *Ohmic Heating* sebagai *pretreatment* untuk meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga belum ditemukan di jurnal. Pada saat penyusunan laporan akhir disertasi, *pretreatment* menggunakan *Ohmic Heating* dilakukan oleh Yodsuwan *et al.* (2018) terhadap pasta mikrolaga *Chlorella* sp untuk memfasilitasi pelepasan lipid dari sel dan transesterifikasi menjadi biodiesel yang

dimediasi oleh lipase. Setelah *pretreatment Ohmic*, pasta biomassa disuspensikan dalam sistem air, heksana, metanol dan lipase immobilisasi untuk ekstraksi lipid dan dikonversi secara simultan menjadi biodiesel.

Penelitian yang dilakukan penulis adalah pemanfaatan listrik tegangan rendah dalam bentuk *Ohmic Heating* sebagai *pretreatment*. Kombinasi metode ekstraksi pasta mikroalga menggunakan listrik tegangan rendah dalam bentuk *Ohmic Heating* dilanjutkan dengan ekstraksi kimia menggunakan pelarut merupakan hal baru untuk ekstraksi minyak mikroalga. Penggunaan metode tersebut dapat meningkatkan hasil ekstraksi. Penggunaan listrik dalam bentuk *Ohmic Heating* yang dipaparkan pada pasta mikroalga akan menyebabkan elektroporasi pada membran sel mikroalga. Sel mikroalga yang telah mengalami elektroporasi (berpori), isinya akan mudah dikeluarkan menggunakan pelarut kimia. Elektroporasi menggunakan *Ohmic Heating* selain disebabkan oleh paparan listrik juga karena panas yang ditimbulkan akibat aliran listrik.

5.6 Implikasi hasil penelitian

Sehubungan dengan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa secara teoritis tegangan listrik memiliki kemampuan untuk mempengaruhi membran sel mikroalga menjadi berpori (elektroporasi) akibat terkena paparan dalam bentuk kejutan listrik maupun aliran listrik. Dengan kondisi membran sel berpori maka isi sel akan mudah untuk dikeluarkan termasuk kandungan minyaknya.

Secara praktis penggunaan listrik tegangan menengah (< 35 kV) dan tegangan rendah (< 1 kV) mampu digunakan untuk memecah atau merusak membran sel menjadi berpori. Peningkatan pembentukan pori dipengaruhi oleh tegangan yang cukup tinggi, lama paparan yang lebih besar, komposisi media dengan konduktivitas tinggi dan suhu media. Selain itu, pembentukan pori dipengaruhi oleh faktor dari sel itu sendiri seperti ukuran sel dan ketebalan membran sel. Setelah sel mengalami porositas maka dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut untuk mengikat minyak baik yang masih berada dalam sel maupun yang sudah keluar dari sel. Metode tersebut masih mungkin untuk diperbaiki dengan cara meningkatkan tingkat elektroporasi yang lebih besar sehingga isi sel akan keluar dan tanpa dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut kimia.

Pengembangan selanjutnya dari penelitian tersebut adalah meningkatkan tingkat elektroporasi dengan cara meningkatkan daya hantar listriknya sehingga penggunaan komposisi media yang memiliki konduktivitas lebih besar akan dapat meningkatkan tingkat elektroporasi. Dengan demikian maka lama paparan akan dapat diturunkan sehingga energi yang diperlukan juga akan lebih rendah. Karena salah satu faktor yang mempengaruhi konsumsi energi pada saat *pretreatment* adalah lama paparan.

Penggunaan listrik tegangan rendah sebagai metode *pretreatment* sebelum ekstraksi dapat dilakukan secara sederhana menggunakan transformator penurun tegangan dengan mengatur tegangan sesuai kebutuhan. Jika menggunakan tegangan yang rendah (55 V) maka memerlukan waktu lebih lama sedangkan jika menggunakan tegangan yang lebih besar maka perlu waktu lebih singkat karena paparan yang lebih lama akan menurunkan hasil. Penggunaan listrik tegangan rendah bisa juga digunakan untuk meningkatkan hasil ekstraksi dari komoditi pertanian dimana kandungan yang akan diekstrak terdapat dalam membran sel.

Selain sebagai metode untuk meningkatkan hasil ekstraksi, penggunaan tegangan rendah juga bisa digunakan sebagai metode untuk pengawetan bahan pangan yang tahan terhadap pemanasan. Jika pengawetan menggunakan pemanasan secara konvensional maka sel mati akibat panas sedangkan penggunaan tegangan rendah untuk pengawetan maka kematian sel akibat elektroporasi dan pemanasan yang ditimbulkan akibat aliran listrik karena penggunaan tegangan rendah ini menghasilkan panas.

Listrik tegangan menengah dapat digunakan sebagai metode untuk meningkatkan hasil ekstraksi minyak mikroalga dalam bentuk *pretreatment*. Dengan *pretreatment* tegangan menengah pada bahan mikroalga maka sel akan mengalami elektroporasi sehingga isi sel akan mudah untuk dikeluarkan. Penggunaan tegangan menengah dapat juga digunakan untuk meningkatkan hasil ekstraksi dari komoditi pertanian dimana kandungan bahan yang akan dikeluarkan terdapat dalam membran sel. Selain untuk meningkatkan ekstraksi, tegangan menengah dapat digunakan sebagai metode untuk pengawetan bahan pangan secara non termal khususnya bahan yang peka terhadap panas. Paparan tegangan menengah tidak menyebabkan perubahan panas, walaupun ada peningkatan suhu nilainya relatif kecil sehingga bisa diabaikan.

Diperkirakan kebutuhan energi akan semakin meningkat seiring dengan kemajuan peradaban manusia dan kemajuan di dunia industri. Hal ini menyebabkan upaya pencarian energi dengan berbagai cara. Termasuk upaya pencarian energi adalah penggunaan mikroalga sebagai sumber energi baik dalam bentuk minyak maupun biomassa. Berbagai spesies mikroalga diteliti untuk dikembangkan sebagai bahan baku energi termasuk metode untuk mengekstrak minyak dalam mikroalga. Metode ekstraksi yang murah dan memberikan rendemen tinggi sangat diperlukan. Salah satu metode yang masih perlu dikembangkan adalah penggunaan tegangan listrik untuk meningkatkan ekstraksi.



VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Listrik dapat digunakan sebagai metode *pretreatment*. Metode *pretreatment* menggunakan listrik dilakukan dengan cara mengalirkan arus listrik (memberikan paparan) ke pasta mikroalga dengan kerapatan mikroalga, tegangan (kuat medan listrik), lama paparan dan media *treatment* (molaritas larutan) tertentu dalam ruang perlakuan secara *batch*
2. Pada penelitian ini digunakan 2 macam metode *pretreatment* yaitu menggunakan listrik tegangan menengah 10,71-12,66 kV atau dengan kuat medan listrik 3,57- 4,22 kV/cm dan listrik tegangan rendah 55-110 V atau kuat medan listrik 18,33-36,67 V/cm. Kedua macam metode menggunakan kerapatan pasta mikroalga 30 g/L. *Pretreatment* dilakukan pada ruang perlakuan secara *batch* dengan volume 75 cm³ dan jarak elektrode 3 cm.
3. Secara umum *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah dan listrik tegangan rendah dapat meningkatkan rendemen minyak dibanding tanpa *pretreatment*. Ada perlakuan *pretreatment* yang lebih rendah dibandingkan tanpa perlakuan diduga ada sebagian hasil ekstraksi yang hilang saat proses pengeringan sehingga perlu ada perbaikan dalam proses pengeringan.
4. Energi listrik yang diperlukan untuk *pretreatment* ditentukan oleh besarnya tegangan, arus listrik dan lama paparan. Besarnya energi *pretreatment* per kg minyak dari penggunaan listrik tegangan menengah berkisar antara 2.540-33.740 kJ/kg sedangkan listrik tegangan rendah bervariasi antara 2.360-90.920 kJ/kg.
5. Dengan tanpa memperhatikan kombinasi perlakuan maka jika diberikan energi yang sama menunjukkan bahwa *pretreatment* menggunakan tegangan rendah memberikan rendemen minyak yang lebih besar dibandingkan dengan tegangan menengah.
6. Hasil analisa GC-MS terhadap minyak mikroalga *Nannochloropsis* sp menghasilkan 31 senyawa asam lemak. Selain itu juga mengandung senyawa kimia penting lain sebagai suplemen bahan pangan dan farmasi seperti DHA dan EPA.

6.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh kerusakan sel akibat paparan medan listrik terhadap rendemen dan kualitas minyak mikroalga.
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemanasan terhadap kerusakan sel dan kandungan bahan-bahan dalam sel mikroalga.
3. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh metode pengeringan terhadap hasil ekstraksi setelah pemberian *pretreatment* tegangan listrik.



DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, P. Walter, M. Raff, and K. Roberts. 2002. *Molecular biology of the cell*. 4th edition. Garland Science
- Allen C.A.W., K.C. Watts, R.G. Ackman, M.J. Pegg. 1999. Predicting the viscosity of biodiesel fuels from their fatty acid ester composition. *Fuel*, 78:1319-1326.
- Amiali, M., M.O. Ngadi, V. G. S.Raghavan, and D.H.Nguyen. 2006. Electrical conductivities of liquid egg products and fruit juices exposed to high pulsed electric fields. *Int.J.of Food Properties*. 9(3):533-540
- Araujo G.S., L.J.B.L. Matos, J.O. Fernandes, S.J.M. Cartaxo, L.R.B. Gonçalves, F.A.N. Fernandes and W.R.L. Farias. 2013. Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: Prospection of the optimal extraction method, *Ultrasonics Sonochemistry*, 20:95-98.
- Aslan, S. and I. K. Kapdan. 2006. Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*, 28(1):64–70
- Assiry, A., S.K. Sastry, and C. Samaranayake. 2003. Degradation kinetics of ascorbic acid during ohmic heating with stainless steel electrodes. *J Appl Electrochem*. 33:187–196
- Balasubramanian, R.K., T.T.Y. Doan and J.P. Obbard, 2013. Factors affecting cellular lipid extraction from marine microalgae. *Chemical Engineering Journal*, vol. 215-216:929-936
- Barbosa-Cánovas, G.V., M.M. Góngora-Nieto, U.R. Pothakamury, and B.G. Swanson. 1999. *Preservation of foods with pulsed electric fields* (pp. 4-47, 108-180). Academic Press, San Diego, USA
- Barsotti L, P. Merle, and J. Cheftel. 1999. Food processing by pulsed electric fields. I. Physical aspects. *Food Rev. Int*. 15(2):163-180
- Biller P., C. Friedman and A.B. Ross. 2013. Hydrothermal microwave processing of microalgae as a pre-treatment and extraction technique for bio-fuels and bio-products. *Bioresource Technology*, 136:188-195.
- Bilska, A.O., K.A. DeBruin, and W. Krassowska. 2000. Theoretical modeling of the effects of shock duration, frequency and strength on the degree of electroporation. *Bioelectrochemistry*. 51:133–143
- Boussetta, N., J.L. Lanoisellé, C. Bedel-Cloutour, and E. Vorobiev. 2009. Extraction of soluble matter from grape pomace by high voltage electrical discharges for polyphenol recovery: Effect of sulphur dioxide and thermal treatments. *Journal of Food Engineering*. 95:192–198
- Bouzzara, H., and E.Vorobiev. 2003. Solid-liquid expression of cellular materials enhanced by pulsed electric filed. *Chemical Engineering and Processing*. 42(4): 249-257
- Boyd, A.R., P. Champagne, P.J. McGinn, K.M. MacDougall and J.E. Melanson. 2012. Switchable hydrophilicity solvents for lipid extraction from microalgae for biofuel production. *Bioresource Technology*. 118:628-632

- Bozbas, K. 2008. Biodiesel as an alternative motor fuel: production and policies in the European Union. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 12:542-552
- Briggs, M. 2004. *Wide scale biodiesel production from algae*. http://www.unh.edu/p2/biodiesel/article_algae.html. acces 10 April 2016.
- Brodellius, P., C. Funk, and R. Shillito. 1988. Permeabilization of cultivated plant cells by electroporation for release of intracellularly stored secondary products. *Plant Cell Reports*. 7:186-188
- Bryant, G and J. Wolfe. 1987. Electromechanical stress produced in the plasma membranes of suspended cells by applied electrical fields. *Journal of Membrane Biology*, 96 (2):129-139.
- Callaway, J.C. 2004. Hempseed as a nutritional resource: an overview. *Euphytica*. 140:65–72
- Canakci M and J.Van Gerpen. 2001. Biodiesel production from oils and fats with high free fatty acids. *Transactions of the ASAE*, Vol. 44(6): 1429–1436.
- Canatella, P.J., J.F. Karr, J.A. Petros, and M. Prausnitz. 2001. Quantitative study of electroporation-mediated molecular uptake and cell viability. *Biophysical Journal*. 80:755–764
- Carlsson, A. S., J.B. van Beilen, R. Möller, D. Clayton. 2007. *Micro- and macro-algae: utility for industrial applications*. <http://www.epobio.net/pdfs/0709AquaticReport.pdf>. acces 10 April 2016
- Castro, A.J., G.V. Barbosa-Canovas, and B.G. Swanson. 1993. Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields. *J. of Food Processing and Preservation*. 17:47–73
- Castro, L., J.A. Teixeira, S. Salengke, S.K. Sastry, and A.A. Vicente. 2003. The influence of field strength, sugar and solid content on electrical conductivity of strawberry product. *Journal of Food Processing Engineering*. 26:17-29
- Chang, D.C., B.M. Chassy, J.A. Saunders, and A.E. Sowers. 1992. *Guide to electroporation and Electrofusio*n. Academic Press, San Diego
- Cheng, C.H., T.B. Dub, H.C. Pi, S.M. Jang, Y.H. Lin and H.T. Lee. 2011. Comparative study of lipid extraction from microalgae by organic solvent and supercritical CO₂. *Bioresource Technology*. 102:10151-10153
- Cheng J., T. Yu, T. Li, J. Zhou and K. Cen. 2013. Using wet microalgae for direct biodiesel production via microwave Irradiation. *Bioresource Technology*. 131:531-535
- Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25(3): 294–306
- Danfelter, M., P. Engstrom, B.R.R. Persson, and L.G. Salford. 1998. Effect of high voltage pulses on survival of Chinese hamster V79 lung fibroblast cells. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 47:97–101
- Darra, N.E., N. Grimi, E. Vorobiev, N. Louka, R. Maroun, 2013. Extraction of polyphenols from red grape pomace assisted by pulsed ohmic heating. *Food Bioprocess Technology*. 6(5):1281–1289.

- De Alwis, A.A.P., and P.J. Fryer, 1990. The use of direct resistance heating in the food industry. *J. of Food Eng.* 11:3-27.
- Demirbas, A. 2008. *Biodiesel: A realistic fuel alternative for diesel engines*. ISBN-13: 9781846289941. © 2008 Springer-Verlag, London Limited
- Demirbas, A., and M.F. Demirbas. 2010. *Algae energy. Algae as a new source of biodiesel*. Springer London Dordrecht Heidelberg New York
- Dey S and V.K. Rathod. 2013. Ultrasound assisted extraction of β -carotene from *Spirulina platensis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20: 271-276.
- Donsì, F., G. Ferrari, M. Frullo, and G. Pataro. 2010. Pulsed electric field-assisted vinification of Aglianico and Piediroso grapes. *J. Agric. Food Chem.* 58 (22):11606–11615
- Dragone, G., B. Fernandes, A.A. Vicente, and J.A. Teixeira.. 2010. Third generation biofuels from microalgae. IBB - Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal.
- Eing. C., M. Goettel, R. Straessner, C. Gusbeth and W. Frey. 2013. Pulsed electric field treatment of microalgae-benefits for microalgae biomass processing. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 41 vol.10: 2901-2907.
- Eshtiaghi, M.N, and D. Knorr, 2002. High electric field pulse pretreatment: potential for sugar beet processing. *J. of Food Engineering*, 52:265-272.
- Falk, O and R. Meyer-Pittroff. 2004. The effect of fatty acid composition on biodiesel oxidative stability. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 106:837-843.
- FDACFSAN. 2000. *Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing Technologies - Ohmic and inductive heating*. <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/iftohm>. Html.
- Flisar, K., S.H. Meglic, J. Morelj, J. Golob and D. Miklavcic,. 2014. Testing a prototype pulse generator for a continuous flow system and its use for E. coli inactivation and microalgae lipid extraction. *Bioelectrochemistry*, 100:44-51.
- Foltz, G., 2012. *Algae lysis with pulsed electric fields*, Master Thesis, California State Polytechnic University, San Luis Obispo Follow.
- Fogg, G.E and B. Thake. 1987. *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*. Third Edition. The University of Wisconsin Press. London. ISBN 0299105601
- Floury, J., N. Grosset, N. Leconte, M. Pasco, M.N. Madec, and R. Jeantet, 2006. Continuous raw skim milk processing by pulsed electric field at non-lethal temperature: effect on microbial inactivation and functional properties. *Le Lait*, 86 (1):43-57.
- Fromm, M.E., L.P. Taylor, and V. Walbot, 1985. Expression of genes transferred into monocot and dicot plant cells by electroporation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82:5824–5828.
- Fu, C.C., T.C. Hung, J.Y. Chen, C.H. Su and W.T. Wu, 2010. Hydrolysis of microalgae cell walls for production of reducing sugar and lipid extraction. *Bioresource Technology*, 101(22):8750-8754.

- Gabriel, B and J. Teissi e, 1995. Spatial compartmentation and time resolution of photooxidation of a cell membrane probe in electroporabilized Chinese hamster ovary cells. *European Journal of Biochemistry*, 228:710–718.
- Goettel, M., C. Eing, C. Gusbeth, R. Straessner and W. Frey. 2013. Pulsed electric field assisted extraction of intracellular valuables from microalgae. *Algae Research*, 2:401-408.
- Grimi, N., A. Dubois, L. Marchal, S. Jubeau, N.I. Lebovka and E. Vorobiev. 2014. Selective extraction from microalgae *Nannochloropsis* sp. using different methods of cell disruption. *Bioresource Technol.* 153:254-259
- Grobbelaar, J.U. 2000. Physiological and technological considerations for optimising mass algal cultures. *J Appl Phycol.* 12:201–206
- Gunstone, F.D. 1994. *The chemistry of oils and Fats: Sources, composition, properties and uses*. London: Blackwell Publishing Ltd.
- Halden, K., A. de-Alwis, and P. Fryer. 1990. Changes in the electrical conductivity of foods during ohmic heating. *J of Food Science and Technology.* 25:9-25
- Halim R, M.K. Danquah and P.A. Webley. 2012. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review, *Biotechnology Advances*, 30:709-732.
- Halim, R., T.W.T. Rupasinghe, D.L.Tull, P. A. Webley. 2013. Mechanical cell disruption for lipid extraction from microalgal biomass. *Bioresource Technology.* 140 (2013) 53-63
- Hibino, M., H. Itoh, and K. Kinoshita. 1993. Time courses of cell electroporation as revealed by submicrosecond imaging of transmembrane potential. *Biophysical Journal.* 64:1789–1800
- Harborne, J.B. 1997. *Metode fitokimia penuntun cara menganalisa tumbuhan*. Bandung. ITB
- Heinz, V., S. Toepfl, D. Knorr. 2003. Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple juice pasteurization by pulsed electric fields treatment. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4 (2):167-175.
- Hili, A.M., and D.A. Feinberg. 1984. *Fuel from microalgae: lipid products, energy from biomass: building on a generic technology base*. In Second technical review meeting
- Horst, I., B.M Parker., J.S Dennis., C.J Howe., S.A Scott., A.G Smith. 2012. Treatment of *Phaeodactylum tricornutum* cells with papain facilitates lipid extraction. *J. of Biotech*, 162:40-49
- Hossain, A.B.M.S., A. Salleh, A.N. Boyce, P. Chowdhury, and M. Naquiuddin, 2008. Biodiesel fuel production from algae as renewable energy. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 4(3):250–254
- Hossain, A.B.M.S., A.N. Boyce, A. Salleh, and S. Chandran. 2010. Impacts of Alcohol Type, Ratio, and Stirring Duration on The Biodiesel Production from Waste Canola Oil, *African Journal of Agricultural Research*. Vol. 5, 14:1851-1859
- Iqbal, J. and C. Theegala. 2013. Microwave assisted lipid extraction from microalgae using biodiesel as co-solvent. *Algal Research*. 2:34–42

- Icier, F., and C. Ilicali. 2005. Temperature dependent electrical conductivities of fruit purees during Ohmic Heating. *Food Res Int.* 38:1135-1142
- Joannes,, C C.S. Sipaut, J. Dayou, S.M. Yasir, and R.F. Mansa. 2015. The Potential of using pulsed electric field (PEF) technology as the cell disruption method to extract lipid from microalgae for biodiesel production. *International Journal of Renewable Energy Research.* 5(2):598-621
- John, R.P., G.S. Anisha, K.M. Nampoothiri, A. Pandey. 2011. Micro and macro algal biomass: A renewable source for bioethanol. *Bioresource Technology.* 102:186-193
- Kanduser, M and M. Damijan. 2008. *Electroporation in biological cell and tissue: An overview in electrotechnologies for extraction from food plants and biomaterials.* e-ISBN: 978-0-387-79374-0
- Kempkes, A. K., I. Roth and M. P. J. Gaudreau. 2011. *Pulsed electric field (PEF) method for continuous enhanced extraction of oil and lipids from small aquatic plants.* US Patent 2011/0107655 A1, 12 May 2011
- Kheira, A.A.A., and N.M.M. Atta. 2008. *Response of jatropha curcas L. to water deficit: yield, water use efficiency and oil seed characteristics.* Biomass and Bioenergy. in press
- Knirsch, M., C.A. Santos, A.M. Vicente, and T.C. Penna. 2010. Ohmic heating a review. *Trends Food Sci Tech.* 21(9):436–441
- Knorr. D., A. Angersbach. 1998. Impact of high-intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends in Food Science & Technology.* 9:185-191
- Knorr, D., A. Angersbach, M. Eshtiaghi, V. Heinz, and D. Lee. 2001. Processing concepts based on high intensity electric field pulses. *Trends in Food Science & Technology.* 12:129-135
- Knothe, G., 2005. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Processing Technology,* 86:1059-1070.
- Krawczyk, T. 1996. Biodiesel. Alternative fuel makes in roads but hurdles remain. *INFORM.* 7:801-829
- Kulay, L.A., G.A. Silva. 2005. *Comparative screening LCA of agricultural stages of soy and castor beans.* In: 2nd international conference on life cycle management – LCM2005. pp. 5–7
- Lakkakula, N., M. Lima, and T. Walker. 2004. Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using Ohmic Heating. *Journal of Bioresource Technology,* 92:157–161
- Lee, C.H. and S.W. Yoon. 1999. Effect of ohmic heating on the structure and permeability of the cell membrane of *Saccharomyces cerevisiae*. *IFT Annual Meeting,* Chicago. July 24-28
- Lee, J.Y., C. Yoo, S.Y. Jun, C.Y. Ahn and H.M. Oh. 2010. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. *Bioresource Technology.* 101:S75-S77
- Lee A.K., D.M. Lewis and P.J. Ashman. 2012. Review disruption of microalgal cells for the extraction of lipids for biofuels: Processes and specific energy requirements. *Biomass and Bioenergy,* 46:89-101.

- Leontiadou, H., Mark, A.E. and Marrink, S.J. 2004. Molecular dynamics simulation of hydrophilic pores in lipid bilayers. *Biophysical Journal*. 86: 2156–2164
- Li, Y., M. Horsman, N. Wu, C.Q. Lan, and N. Dubois-Calero. 2008. Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress*. 24(4):815–20
- Lima, M., and S.M. Sastry. 1999. The effects of ohmic heating frequency on hot-air drying rate and juice yield. *Journal of Food Sciences*. 41:115–119
- Loypimai, P., M. Anuchita, C. Pheeraya, and M. Tanongsak. 2015. Ohmic Heating-assisted extraction of *anthocyanins* from black rice bran to prepare a natural food colourant. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 27:102-110
- Luque de Castro, M. D., and L. E. Garcia-Ayuso. 1998. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. *Analytica Chimica Acta*, 369:1-10.
- Ma, X.N., T.P. Chen, B. Yang, J. Liu and F. Chen. 2016. Lipid Production from *Nannochloropsis*. *Mar. Drugs*, 14, 61. (doi:10.3390/md14040061)
- Macek-Lebar, A. and D. Miklavcic. 2001. Cell electroporation to small molecules in vitro: control by pulse parameters. *Radiologica Oncology*. 35:193–202
- Mata, T.M., A.A. Martins, N.S. Caetano. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14:217–232
- McHugh, D.J. 2003. *A guide to the seaweed industry*. FAO Fisheries Technical Paper No. 441. FAO, Rome
- Meaking, W.S., J. Edgerton, C.W. Wharton, and R.A. Meldrum. 1995. Electroporation-induced damage in mammalian cell DNA. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1264:357–362
- Middelberg A. P. J. 1995. Process-Scale disruption of microorganisms, *Biotechnology Advances*. 13(3):491-551.
- Mittelbach, M and C. Remschmidt. 2004. *Biodiesel: The Comprehensive Handbook*. Boersdruck Ges. M.B.H., Vienna.
- Mouahid, A., C. Crampon, S.A.A. Toudji and E. Badens. 2013. Supercritical CO₂ extraction of neutral lipids from microalgae: Experiments and modelling. *Journal of Supercritical Fluids*. 77:7-16
- Nair, G.R., V.R. Divya., L.Prasannan, V. Habeeba., M. V. Prince., G. S. V Raghavan. 2012. Ohmic heating as a pre-treatment in solvent extraction of rice bran. *J. Food Sci Tech*. DOI 10.1007/s13197-012-0764-2
- Neto A.M.P., R.A.S. de-Souza, A.D. Leon-Nino, J.D.A. da-Costa, R.S. Tiburcio, T.A. Nunes, T.C.S. de-Mello, F.T. Kanemoto, F.M.P. Saldanha-Corrêa and S.M.F. Ganesella. 2013. Improvement in microalgae lipid extraction using a sonication-assisted method. *Renewable Energy*, 55:525-531.
- Neumann, E. A.E. Sowers, and C.A. Jordan. 1989. *Electroporation and electrofusion in cell biology*. Plenum press. New York
- Neumann, E. 1992. Membrane electroporation and direct gene transfer. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 28:247–267

- Neumann, E., S. Kakorin. and K. Toensing. 1999. Fundamentals of electroporative delivery of drugs and genes. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 48:3–16
- Nielsen, D.C. 2008. Oil seed productivity under varying water availability. *In: Proceedings of 20th annual central plains irrigation conference and exposition*. pp. 30–33
- Olofsson, M., T. Lamela, E. Nilsson, J. P. Bergé, V.Pino, P. Uronen, and C. Legrand. 2012. Seasonal Variation of Lipids and Fatty Acids of the Microalgae *Nannochloropsis oculata* Grown in Outdoor Large-Scale Photobioreactors. *Energies*. 5:1577-1592
- OriginOil. 2010. *Algae harvesting, dewatering and extraction*. World biofuels market. 15-17 March 2010. RAI Congress Centre, Amsterdam
- Ozgul, S., and S. Turkay. 1993. In situ esterification of rice bran oil with methanol and ethanol. *J. Am. Oil Chem Soc.* 70:145-147
- Palaniappan. S, and S.K. Sastry. 1991. Electrical conductivities of selected solid foods during Ohmic Heating. *J Food Eng.* 14:221-236
- Parniakov, O., F.J. Barba, N. Grimi, L. Marchal, S. Jubeau, N. Lebovka, and E. Vorobiev. 2015. Pulsed electric field assisted extraction of nutritionally valuable compounds from microalgae *Nannochloropsis* sp. using the binary mixture of organic solvents and water. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 27:79–85
- Pasquet, J.R. Chéroutier, F. Farhat, V.Thiéry, J.M. Piot, J.B. Bérard, R. Kaas, B. Serive, T. Patrice, J.P. Cadoret and L. Picot. 2011. Study on the microalgal pigments extraction process: Performance of microwave assisted extraction. *Process Biochemistry*, 46:59-67.
- Pavlin, M., M. Kanduser, M. Rebersek, G. Pucihar, F.X. Hart, R. Madjarevic, and D. Miklavcic. 2005. Effect of cell electroporation on the conductivity of a cell suspension. *Biophysical Journal*. 88: 4378-4390.
- Pavlin, M., V. Leben, and D. Miklavcic. 2007. Electroporation in dense cell suspension – Theoretical and experimental analysis of ion diffusion and cell permeabilization. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1770:12–23
- Peralta-Ruiz Y., A.D. González-Delgado and V. Kafarov. 2013. Evaluation of alternatives for microalgae oil extraction based on exergy analysis. *Applied Energy*, 101:226-236.
- Peterson, C.L., and T. Hustrulid. 1998. Carbon cycle for rapeseed oil biodiesel fuels. *Biomass and Bioenergy*. 14(2):91–101
- Pirt, S.J. 1986. The thermodynamic efficiency (quantum demand) and dynamics of photosynthetic growth. *Appl Phycol*. 13:307–315
- Pliquett, U., E.A. Gift, and J.C. Weaver. 1996. Determination of the electric field and anomalous heating caused by exponential pulses with aluminum electrodes in electroporation experiments. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 39:39–53.
- Pratoomyot, J., P. Srivilas, and T. Noiraksar. 2005. Fatty acids composition of 10 microalgal species. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 27(6):1179–1187

- Prausnitz, M.R., J.D. Corbett, J.A. Gimm, D.E. Golan, R. Langer, and J.C. Weaver. 1995. Millisecond measurement of transport during and after an electroporation pulse. *Biophysica Journal*. 68:1864–1879
- Prud'homme, G.J., Y. Glinka, A.S. Khan, and R. Draghia-Akli. 2006. Electroporation-enhanced nonviral gene transfer for the prevention or treatment of immunological, endocrine and neoplastic diseases. *Current Gene Therapy*. 6:243-273
- Pucihar, G., L.M. Mir, D. Miklavcic. 2002. The effect of pulse repetition frequency on the uptake into electroporabilized cells in vitro with possible applications in electrochemotherapy. *Bioelectrochemistry*. 57:167-172.
- Puertolas, E., P. Hernandez-Orte, G. Sladana, I. Alvarez, J. Raso. 2010. Improvement of wine making process using pulsed electric fields at pilot-plant scale. Evolution of chromatic parameters and phenolic content of Cabernet Sauvignon red wines. *Food Res Int*. 43(3):761–766
- Qin, B., F.Chang, G.V. Barbosa-Cánovas, B.G. Swanson. 1995. Nonthermal inactivation of *S. cerevisiae* in apple juice using pulsed electric fields. *Lebensm Wiss Technol*. 28:564-568
- Qin, S, I. V. Timoshkin, M. Maclean, M.P. Wilson, S.J. MacGregor, M.J. Given, J.G. Anderson and T. Wang. 2014. Pulsed electric field treatment of microalgae: Inactivation tendencies and energy consumption. *IEEE Transactions on Plasma Sci*. pp. 1-6
- Rahman, M. 1995. *Biodiesel, alternatif substitusi solar yang menjanjikan bagi Indonesia*. Lembaran Publikasi Lemigas No. 1/95
- Ramluckan K., K.G. Moodley and F. Bux. 2014. An evaluation of the efficacy of using selected solvents for the extraction of lipids from algal biomass by the soxhlet extraction method. *Fuel*, 116:103-108.
- Rathbauer, J., H. Prankl, K. Krammer. 2002. *Energetic use of natural vegetable oil in Austria*. Austria: BLT – Federal Institute of Agricultural Engineering
- Richmond, A. 2004. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Blackwell Science Ltd.
- Rodolfi, L., G.C, Zittelli. N. Bassi, G. Padovani, N. Biondi, G. Bonini. 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*. 102(1):100-112
- Rols, M.P and J. Teissi'e. 1990. Electroporabilization of mammalian cells. Quantitative analysis of the phenomenon. *Biophysical Journal*. 58:1089–1098
- Rols, M.P. 2006. Electroporabilization, a physical method for the delivery of therapeutic molecules into cells. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1758: 423-428
- Rosenberg, J.N., G.A. Oyler, L. Wilkinson, and M.J. Betenbaugh. 2008. A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Current Opinion in Biotechnology*. 19(5):430–436
- Ryckebosch E., K. Muylaert, I. Foubert. 2011. Optimization of an Analytical Procedure for Extraction of Lipids from Microalgae. *J Am Oil Chem Soc*. DOI 10.1007/s11746-011-1903-z

- Sakr, M and S. Liu. 2014. A comprehensive review on applications of Ohmic Heating (OH). *J Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 39:262–269
- Salengke, S and S.K. Sastry. 2007. Experimental investigation of ohmic heating of solid liquid mixture under worst-case heating scenarios. *J Food Eng*. 83:324–336
- Samarasinghe N., S. Fernando, R. Lacey and W.B. Faulkner. 2012. Algal cell rupture using high pressure homogenization as a prelude to oil extraction. *Renewable Energy*, vol. 48:300-308.
- Sastry, S.K and Q. Li. 1996. Modelling the ohmic heating of foods. *Food Technology* (May): 246-248.
- Sastry, S.K. and J.T. Barach. 2000. Ohmic and inductive heating. *Journal of Food Science*. 65:42-46
- Schenk, P.M., S.R.T. Hall, E. Stephens, U.C. Marx, J.H. Mussnug, and C. Posten. 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenergy Research*. 1:20–43
- Schoenbach, K.H., F.E. Peterkin, R.W. Alden, and S.J. Beebe. 1997. The effect of pulsed electric fields on biological cells: Experiments and applications. *IEEE Transactions on Plasma Science*. 25(2):284–292
- Schreier, P., D. Reid, and P. Fryer. 1993. Enhanced diffusion during the electrical heating of foods. *Journal of Food Science and Technology*. 28:249–260
- Sheehan, J., T. Dunahay, J. Benemann, and P. Roessler. 1998. *A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program: biodiesel from algae*. NREL/TP-580-24190. National Renewable Energy Laboratory. USA
- SNI 04-0225-2000. Persyaratan Umum Instalasi Listrik 2000 (PUIL 2000).
- Spiden E.M., B.H.J. Yap, D.R.A. Hill, S.E. Kentish, P.J. Scales and G.J.O. Martin. 2013. Quantitative evaluation of the ease of rupture of industrially promising microalgae by high pressure homogenization. *Bioresource Technology*, 140:165-171.
- Suali E and R. Sarbatly. 2012. Conversion of microalgae to biofuel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol.16 (6):4316-4342.
- Takagi, M., Karseno, T. Yoshida. 2006. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cells. *J. Biosci. Bioeng*. 101:223-226
- Teissi'e, J. and M.P. Rols. 1993. An experimental evaluation of the critical potential difference inducing cell membrane electroporation. *Biophysical Journal*. 65:409–413
- Teissi'e, J. and C. Ramos. 1998. Correlation between electric field pulse induced long-lived permeabilization and fusogenicity in cell membrane. *Biophysical Journal*. 74:1889–1898
- Teissi'e, J., N. Eynard, M.C. Vernhes, A. BeniChou, V. Ganeva, B. Galutzov, and P.A. Cabanes. 2002. Recent biotechnological developments of electroporation: A prospective review. *Bioelectrochemistry*. 55:107–112

- Teixeira, C.M and M.E. Morales. 2007. *Microalga como matéria-prima para a produção de biodiesel*. Revista: Biodiesel o Novo combustível do Brasil
- Teo C.L. and A. Idris. 2014. Enhancing the various solvent extraction method via microwave irradiation for extraction of lipids from marine microalgae in biodiesel production. *Bioresource Technology*, 171:477-481.
- Tiwari, A.K., A. Kumar, and H. Raheman. 2007. Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids : An optimized process, *Biomass and Bioenergy*, 31:569-575
- Tsong, T.Y. 1991. Electroporation of cell membranes. *Biophysical Journal*. 60:297–306
- Tsukahara, K. and S. Sawayama. 2005. Liquid fuel production using microalgae. *J of the Japan Petroleum Institute*. 48(5):251–259
- Varghese K., M. Pandey, K. Radhakrishna, A. Bawa. 2012. Technology, applications and modelling of ohmic heating: a review. *J Food Sci Tech* 49:1–14
- Vernhes, M.C., P.A. Cabanes and J.Teissie. 1999. Chinese hamster ovary cell sensitivity to localized electrical stresses. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 48:17-25
- Vollmann, J., T. Moritz, C. Kargl, S. Baumgartner, and H. Wagentristl. 2007. Agronomic evaluation of camelina genotypes selected for seed quality characteristics. *Industrial Crops and Products*. 26:270-277
- Wang, M., W. Yuan, X. Jiang, Y. Jing and Z. Wang. 2014. Disruption of microalgal cells using high-frequency focused ultrasound. *Bioresource Technology*, 153:315-321
- Weaver, J.C. 2003. Electroporation of cells and tissues. *IEEE Transaction on Plasma Science*. vol. 28, no. 1, February 2000
- Yodsuwan, N., P. Kamonpatana, Y. Chisti, S. Sirisansaneeyakul. 2018. Ohmic heating pretreatment of algal slurry for production of biodiesel. *Journal of Biotechnology*. 267:71-78
- Yoo, G., W.K. Park, C.W. Kim, Y.E. Choi and J.W. Yang. 2012. Direct lipid extraction from wet *Chlamydomonas reinhardtii* biomass using osmotic shock. *Bioresource Technology*. 123:717-722
- Zappi, M., R. Hernandez, D. Sparks, J. Horne, M. Brough, and D.C. Swalm. 2003. *A review of the engineering aspects of the biodiesel industry*. MSU E-TECH Laboratory Report ET-03-003.
- Zbinden, M. D. A., B.S.M.Strum, R.D. Nord, W.J. Carey, D. Moore, H. Shinogle and S.M. Stagg-Williams. 2013. Pulsed electric field (PEF) as an intensification pretreatment for greener solvent lipid extraction from microalgae. *Biotechnol. Bioeng*. 110:1605–1615
- Zell, M., J.G. Lyng, D.J. Morgan, and D.A. Cronin. 2009. Development of rapid response thermocouple probes for use in a batch ohmic heating system. *J Food Eng*, 93:344-347
- Zhao G., X. Chen, L. Wang, S. Zhou, H. Feng, W.N. Chen and R. Lau. 2013., Ultrasound assisted extraction of carbohydrates from microalgae as feedstock for yeast fermentation. *Bioresource Technology*, 128:337-344.

- Zimmermann, U. 1982. Electric field-mediated fusion and related electrical phenomena. *Biochimica et Biophysica Acta*. 696:227-277
- Zittelli, G.C., F. Lavista, A. Bastianini, L Rodolfi, M. Vincenzini, M.R. Tredici.1999. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors. *J. Biotechnol.* 70:299-312.



LAMPIRAN 1. Ringkasan metode ekstraksi mikroalga

Tabel 1. Ringkasan metode ekstraksi

Tipe gangguan sel	Aksi setelah gangguan sel	Strain mikroalga	Kondisi operasi	Gangguan sel (%) / rendemen ekstraksi (%)	Referensi
HPH	-	<i>Chlorococcum</i> sp	500 - 850 bar, 5 passes, 15 menit	73,8 ^a	Halim, 2012
	-	<i>Tetraselmis</i> sp.	170 bar, 1 pass	50 ^a	Spiden, 2013
	-	<i>Chlorella</i> sp.	1070 bar, 1 pass	50 ^a	Spiden, 2013
	-	<i>Nannochloropsis</i> sp.	2000 bar, 1 pass	50 ^a	Spiden, 2013
Sonication	Solvent extraction	<i>Chlorella minutissima</i>	Ultrasonication ice/water bath selama 20 menit, n-C6 H14	15,5 ^b	Neto, 2013
		<i>Thalassiosira fluvialis</i>		40,3 ^b	Neto, 2013
		<i>Thalassiosira pseudonana</i>		39,5 ^b	Neto, 2013
Sonication	Solvent extraction (Bligh and Dyer method)	<i>Chlorella vulgaris</i>	40 kHz, 2.68 W/m ² , 25°C Ekstraksi pertama: CH ₃ OH : CHCl ₃ : H ₂ O (5:2.5:1; v/v/v) Sonikated for 40 menit Ekstraksi kedua: CHCl ₃ : Na ₂ SO ₄ (1:1; v/v) Sonikasi selama 20 menit	52,5 ^b	Araujo, 2013
	Solvent extraction (Chen method)	<i>Chlorella vulgaris</i>	40 kHz, 2.68 W/m ² , 25°C Ekstraksi pertama: CH ₃ OH, Sonikasi selama 3 menit Ekstraksi kedua: CH ₂ Cl ₂ , Sonikasi selama 27 menit	10,9 ^b	Araujo, 2013
	Solvent extraction (Folch method)	<i>Chlorella vulgaris</i>	40 kHz, 2.68 W/m ² , 25°C Ekstraksi pertama: CH ₃ OH, Sonikasi selama 3 menit Ekstraksi kedua: CHCl ₃ , Sonikasi selama 27 menit	16,1 ^b	Araujo, 2013
	Solvent extraction (Hara and Radin method)	<i>Chlorella vulgaris</i>	40 kHz, 2.68 W/m ² , 25°C Ekstraksi pertama: C ₃ H ₇ OH, Sonikasi selama 4 menit Ekstraksi kedua: C ₆ H ₁₄ , Sonikasi selama 56 menit	2,2 ^b	Araujo, 2013
	Soxhlet method	<i>Chlorella vulgaris</i>	40 kHz, 2.68 W/m ² , Ekstraksi Soxhlet selama 8 jam menggunakan acetone	1,8 ^b	Araujo, 2013
MAE	Solvent extraction	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2.45 GHz, 400 W, 30 menit, CH ₃ OH : CHCl ₃ (1:1; v/v)	19,03 ^b	Cheng, 2013

LAMPIRAN 1. (Lanjutan)

MAE	Solvent extraction (Bligh and Dyer Method)	<i>Nannochloropsis</i> sp.	500 W, 5 menit, 65 °C Ekstraksi pertama: CH ₃ OH : CHCl ₃ : H ₂ O (5:2.5:1; v/v/v) Ekstraksi kedua: CHCl ₃ : Na ₂ SO ₄ (1:1; v/v)	4,2 ^c	Teo, 2014
		<i>Tetraselmis</i> sp.		7,4 ^c	
	Solvent extraction (Chen Method)	<i>Nannochloropsis</i> sp.	500 W, 5 menit, 65 °C Ekstraksi pertama: CH ₃ OH Ekstraksi kedua: CH ₂ Cl ₂	8,1 ^c	Teo, 2014
		<i>Tetraselmis</i> sp.		6,8 ^c	
	Solvent extraction (Folch Method)	<i>Nannochloropsis</i> sp.	500 W, 5 menit, 65 °C Ekstraksi pertama: CH ₃ OH Ekstraksi kedua: CHCl ₃	8,4 ^c	Teo, 2014
		<i>Tetraselmis</i> sp.		5,4 ^c	
	Solvent extraction (Hara and Radin Method)	<i>Nannochloropsis</i> sp.	500 W, 5 menit, 65 °C Ekstraksi pertama: C ₃ H ₇ OH Ekstraksi kedua: C ₆ H ₁₄	5,9 ^c	Teo, 2014
		<i>Tetraselmis</i> sp.		8,2 ^c	
MAE	Solvent extraction	<i>Nannochloropsis</i> sp.	2.45 GHz, 1.2 kW, 15 menit, 100 °C, (20% Methyl Soyate dalam C ₂ H ₅ OH)	16,5 ^b	Teo, 2014
		<i>Nannochloropsis</i> sp.	2.45 GHz, 1.2 kW, 15 menit, 120 °C, (40% Methyl Soyate dalam C ₂ H ₅ OH)	56,6 ^b	Teo, 2014
		<i>Nannochloropsis</i> sp.	2.45 GHz, 1.2 kW, 15 menit, 120 °C, CHCl ₃ : C ₂ H ₅ OH (1:2; v/v)	53,1 ^b	Teo, 2014
Osmotic shock	Solvent extraction	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (wildtype)	60 g/L of NaCl, C ₆ H ₁₄ : CH ₃ OH (7:3; v/v)	6,67 ^d	Yoo, 2012
			60 g/L of sorbitol, C ₆ H ₁₄ : CH ₃ OH (7:3; v/v)	5,61 ^d	
		<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (cell wall-less Mutant)	60 g/L of NaCl, C ₆ H ₁₄ : CH ₃ OH (7:3; v/v)	9,88 ^d	Yoo, 2012
			60 g/L of sorbitol, C ₆ H ₁₄ : CH ₃ OH (7:3; v/v)	5,96 ^d	
	Solvent extraction	<i>Botryococcus</i> sp.	10% larutan NaCl, vortex selama 1 menit dan dipertahankan selama 48 jam, CHCl ₃ : CH ₃ OH (1:1; v/v)	11 ^a	Lee, 2010
		<i>Chlorella vulgaris</i> .		8 ^a	Lee, 2010
		<i>Scenedesmus</i> sp.		8 ^a	Lee, 2010
Solvent extraction	Solvent extraction	<i>Isochrysis galbana</i>	CHCl ₃ : CH ₃ OH (1:1; v/v)	27.7 ^e	Ryckebosch, 2014
		<i>Nannochloropsis gaditana</i>		28.2 ^e	Ryckebosch, 2014
		<i>Nannochloropsis</i> sp.		30.2 ^e	Ryckebosch, 2014
		<i>Phaeodactylum tricornutum</i> .		17.8 ^e	Ryckebosch, 2014
	Solvent extraction	<i>Chlorella</i> sp.	61.5 °C, 3 jam, CHCl ₃	7.26 ^b	Ramluckan, 2014
			78.0 °C, 3 jam, C ₂ H ₅ OH	9.40 ^b	Ramluckan, 2014
			69.0 °C, 3 jam, C ₆ H ₁₄	4.81 ^b	Ramluckan, 2014
			61.5 - 78 °C, 3 jam, CHCl ₃ : C ₂ H ₅ OH (1:1; v/v)	11.76 ^b	Ramluckan, 2014

LAMPIRAN 1. (Lanjutan)

<i>Bead beating</i>	SC-CO ₂	<i>Pavlova</i> sp.	Bead beating: 1500 rpm, 5 menit. SC-CO ₂ extraction: 306 bar, 60 °C, 6 jam	17.9 ^b	Cheng, 2011
<i>Supercritical</i>	SC-CO ₂	<i>Pavlova</i> sp.	306 bar, 60 °C, 6 jam,	10.4 ^b	Cheng, 2011
	SC-CO ₂	<i>Nannochloropsis oculata</i>	40 MPa, 60 °C, laju aliran CO ₂ antara 0.3 to 0.5 kg/jam	93.82 ^f	Mouahid, 2013
<i>Enzymatic</i>	<i>Solvent extraction</i>	<i>Chlorella</i> sp.	Enzymatic: Immobilized cellulase 60 °C, 4.6 pH, 72 jam Ekstraksi pelarut: n-C ₆ H ₁₄ , 28 °C	10.6 ^g	Fu, 2010
	-	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	1 mg/ml of Viscozyme, 37 °C, 2 jam	92 ^h	Horst, 2012
	-		1 mg/ml of Papain, 37 °C, 2 jam	104 ^h	Horst, 2012
	-		1 mg/ml of Proteinase K., 37 °C, 2 jam	100 ^h	Horst, 2012
	<i>Solvent extraction</i>		Enzymatic: 1 mg/ml of Papain, 37 °C, 2 jam Ekstraksi pelarut: C ₇ H ₁₆ : C ₃ H ₇ OH (3:2 ; v/v)	96 ⁱ	Horst, 2012
	<i>Solvent extraction</i>		Enzymatic: 1 mg/ml of Papain, 37 °C, 2 jam, pelarut C ₇ H ₁₆	56 ⁱ	Horst, 2012
	-	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	1 mg/ml of Driselase 37 °C, 2 jam	100 ^h	Horst, 2012
	-	<i>Nannochloropsis oculata</i>	1 mg/ml of Viscozyme 37 °C, 2 jam	88 ^h	Horst, 2012
	-		1 mg/ml of Proteinase K. 37 °C, 2 jam	89 ^h	Horst, 2012

Keterangan

- a = tingkat gangguan sel (*cell disruption*)
b = efisiensi ekstraksi minyak (% w/w)
c = efisiensi ekstraksi minyak (% v/w) yaitu vol minyak terekstrak dibagi berat kering sampel
d = hasil minyak dinyatakan dalam satuan mg/L
e = Kandungan lipida total dinyatakan dalam g/100 g berat kering.
f = Jumlah trigliserida dalam % massa (biomassa 2 sampai 13 gram berat kering)
g = Konsentrasi lipid dalam mg/mL
h = Jumlah lipid dalam % (dihitung menggunakan uji Nil Merah)
i = Jumlah Triasilgliserol (TAG) dalam %, berdasarkan ekstraksi lipid standar dengan menggunakan campuran pelarut CHCl₃ dan CH₃OH (2: 1; v/v)

LAMPIRAN 2. Rendemen minyak mikroalga hasil ekstraksi menggunakan listrik tegangan menengah

Tabel 2. Perlakuan pada *pretreatment* tegangan menengah

Perlakuan	Simbol	Keterangan
Tegangan (V)	V_{p1}	10,71 kV
	V_{p2}	11,20 kV
	V_{p3}	12,66 kV
Lama (T)	T_{p1}	30 dt
	T_{p2}	90 dt
Molaritas (M)	M_{p0}	0 M
	M_{p1}	0,1 M

Tabel 3. Rendemen minyak (%) pada *pretreatment* tegangan menengah

KODE	Ulangan			Rata2 rendemen (%)	Berat minyak rata2 (g)
	1	2	3		
$V_{p1}T_{p1}M_{p0}$	5,82	5,03	5,95	5,6	0,28
$V_{p1}T_{p1}M_{p1}$	7,61	8,46	6,04	7,37	0,37
$V_{p1}T_{p2}M_{p0}$	2,69	2,82	2,49	2,66	0,13
$V_{p1}T_{p2}M_{p1}$	4,48	3,2	5,36	4,35	0,22
$V_{p2}T_{p1}M_{p0}$	6,06	5,17	6,79	6,01	0,30
$V_{p2}T_{p1}M_{p1}$	7,53	6,31	6,44	6,76	0,34
$V_{p2}T_{p2}M_{p0}$	3,91	3,4	4,9	4,07	0,20
$V_{p2}T_{p2}M_{p1}$	4,2	4,29	6,58	5,02	0,25
$V_{p3}T_{p1}M_{p0}$	6,1	5,72	4,26	5,36	0,27
$V_{p3}T_{p1}M_{p1}$	5,78	6,51	5,99	6,09	0,30
$V_{p3}T_{p2}M_{p0}$	2,21	2,14	3,31	2,55	0,13
$V_{p3}T_{p2}M_{p1}$	3,67	4,29	3,4	3,79	0,19

berat minyak (g) = rendemen (%) x 5 g

berat sampel yang digunakan adalah 5 g

LAMPIRAN 2. (Lanjutan)

Tabel 4. Hasil analisa sidik ragam minyak mikroalga hasil *pretreatment* menggunakan tegangan menengah menggunakan SPSS

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable:HASIL					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	77,584 ^a	13	5,968	8,384	0,000
Intercept	888,971	1	888,971	1,249E3	0,000
KELOMPOK	0,745	2	0,373	0,523	0,600
FAKTOR_V	6,184	2	3,092	4,343	0,026
FAKTOR_T	54,402	1	54,402	76,424	0,000
FAKTOR_M	12,695	1	12,695	17,834	0,000
FAKTOR_V * FAKTOR_T	1,996	2	0,998	1,402	0,267
FAKTOR_V * FAKTOR_M	1,336	2	0,668	0,939	0,406
FAKTOR_T * FAKTOR_M	0,096	1	0,096	0,134	0,717
FAKTOR_V * FAKTOR_T * FAKTOR_M	0,130	2	0,065	0,091	0,913
Error	15,661	22	0,712		
Total	982,217	36			
Corrected Total	93,245	35			
JIKA sig > 0.05 MAKA Ho diterima dan H1 ditolak atau PERLAKUAN TIDAK BERBEDA					
JIKA sig < 0.05 MAKA PERLAKUAN BERBEDA					

a. R Squared =0,832 (Adjusted R Squared = 0,733)

KESIMPULAN

- pengaruh faktor V (tegangan) signifikan
- pengaruh faktor T (lama paparan) signifikan
- pengaruh faktor M (molaritas) signifikan
- pengaruh interaksi VT tidak signifikan
- pengaruh interaksi VM tidak signifikan
- pengaruh interaksi TM tidak signifikan
- pengaruh interaksi VTM tidak signifikan

LAMPIRAN 3. Rendemen minyak mikroalga hasil ekstraksi menggunakan listrik tegangan rendah (*Ohmic Heating*)

Tabel 5. Perlakuan pada *pretreatment* tegangan rendah

Perlakuan	Simbol	Keterangan
Tegangan (V)	V_{h1}	55 V
	V_{h2}	110 V
Lama (T)	T_{h1}	30 dt
	T_{h2}	60 dt
Molaritas (M)	M_{h0}	0 M
	M_{h1}	0,01 M
	M_{h2}	0,1 M

Tabel 6. Rendemen minyak (%) pada *pretreatment* tegangan rendah

KODE	Ulangan			Rata2 rendemen (%)	Berat minyak rata2 (g)
	1	2	3		
$V_{h1}T_{h1}M_{h0}$	7,97	4,13	6,63	6,24	0,31
$V_{h1}T_{h1}M_{h1}$	5,22	4,47	6,67	5,45	0,27
$V_{h1}T_{h1}M_{h2}$	10,76	12,03	9,18	10,66	0,53
$V_{h1}T_{h2}M_{h0}$	8,87	5,87	6,45	7,06	0,35
$V_{h1}T_{h2}M_{h1}$	7,46	5,39	5,35	6,07	0,30
$V_{h1}T_{h2}M_{h2}$	12,2	11,9	9,49	11,2	0,56
$V_{h2}T_{h1}M_{h0}$	5,04	2,56	4,77	4,12	0,21
$V_{h2}T_{h1}M_{h1}$	2,57	4,39	2,21	3,06	0,15
$V_{h2}T_{h1}M_{h2}$	10,66	9,67	8,77	9,7	0,49
$V_{h2}T_{h2}M_{h0}$	6,07	6,61	4,21	5,63	0,28
$V_{h2}T_{h2}M_{h1}$	4,21	4,66	3,22	4,03	0,20
$V_{h2}T_{h2}M_{h2}$	11,21	10,48	11,08	10,92	0,55

berat minyak (g) = rendemen (%) x 5 g

berat sampel yang digunakan adalah 5 g

LAMPIRAN 3. (Lanjutan)Tabel 7. Hasil analisa sidik ragam minyak mikroalga hasil *pretreatment* menggunakan tegangan rendah menggunakan SPSS

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable:HASIL					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	285,014a	13	21,924	15,86	0,000
Intercept	1769,804	1	1769,804	1,28E+03	0,000
KELOMPOK	8,902	2	4,451	3,22	0,059
FAKTOR_V	21,286	1	21,286	15,398	0,001
FAKTOR_T	8,073	1	8,073	5,84	0,024
FAKTOR_M	241,643	2	120,822	87,4	0,000
FAKTOR_V * FAKTOR_T	0,747	1	0,747	0,54	0,470
FAKTOR_V * FAKTOR_M	4,09	2	2,045	1,479	0,250
FAKTOR_T * FAKTOR_M	0,221	2	0,11	0,08	0,923
FAKTOR_V * FAKTOR_T * FAKTOR_M	0,052	2	0,026	0,019	0,981
Error	30,413	22	1,382		
Total	2085,231	36			
Corrected Total	315,427	35			
a. R Squared = 0,904 (Adjusted R Squared = 0,847)					
JIKI sig > 0,05 MAKA Ho diterima dan H1 ditolak atau PERLAKUAN TIDAK BERBEDA					
JIKI sig < 0,05 MAKA PERLAKUAN BERBEDA					

KESIMPULAN

- pengaruh faktor V signifikan
- pengaruh faktor T signifikan
- pengaruh faktor M signifikan
- pengaruh interaksi VT tidak signifikan
- pengaruh interaksi VM tidak signifikan
- pengaruh interaksi TM tidak signifikan
- pengaruh interaksi VTM tidak signifikan

LAMPIRAN 4. Energi *pretreatment* listrik tegangan menengah

Tabel 8. Energi listrik untuk *pretreatment* menggunakan listrik tegangan menengah

KODE	Tegangan (V)	Arus rata-rata (i)	Lama paparan (T)	Energi (J)
$V_{p1}T_{p1}M_{p0}$	220	0,23	30	1.522,4
$V_{p1}T_{p1}M_{p1}$	220	0,23	30	1.537,8
$V_{p1}T_{p2}M_{p0}$	220	0,23	90	4.488,0
$V_{p1}T_{p2}M_{p1}$	220	0,23	90	4.613,4
$V_{p2}T_{p1}M_{p0}$	220	0,13	30	831,6
$V_{p2}T_{p1}M_{p1}$	220	0,17	30	1.095,6
$V_{p2}T_{p2}M_{p0}$	220	0,17	90	3.346,2
$V_{p2}T_{p2}M_{p1}$	220	0,17	90	3.405,6
$V_{p3}T_{p1}M_{p0}$	220	0,12	30	767,8
$V_{p3}T_{p1}M_{p1}$	220	0,12	30	772,2
$V_{p3}T_{p2}M_{p0}$	220	0,11	90	2.178,0
$V_{p3}T_{p2}M_{p1}$	220	0,11	90	2.237,4

LAMPIRAN 5. Perubahan arus listrik dan energi selama *pretreatment* tegangan rendah

Tabel 9. Perubahan arus listrik selama *pretreatment* tegangan rendah

detik ke-	ARUS (Amper)											
	$V_{h1} T_{h1} M_{h0}$	$V_{h1} T_{h1} M_{h1}$	$V_{h1} T_{h1} M_{h2}$	$V_{h2} T_{h1} M_{h0}$	$V_{h2} T_{h1} M_{h1}$	$V_{h2} T_{h1} M_{h2}$	$V_{h1} T_{h2} M_{h0}$	$V_{h1} T_{h2} M_{h1}$	$V_{h1} T_{h2} M_{h2}$	$V_{h2} T_{h2} M_{h0}$	$V_{h2} T_{h2} M_{h1}$	$V_{h2} T_{h2} M_{h2}$
0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	-
5	0,4	0,68	2,47	0,74	1,75	6,15	0,49	0,53	2,99	0,62	2,00	7,22
10	0,44	0,7	3,49	0,84	2	7,7	0,51	0,64	3,20	0,84	2,10	9,28
15	0,48	0,71	3,77	0,98	2,5	9,5	0,56	0,66	3,53	0,91	2,20	10,55
20	0,51	0,72	4	1,13	2,53		0,58	0,69	3,71	1,12	2,27	
25	0,54	0,73	4,42	1,25	2,82		0,60	0,69	4,00	1,17	2,47	
30	0,62	0,74	4,52	1,43	3,04		0,60	0,71	4,18	1,36	2,53	
35							0,61	0,73	4,42	1,44	2,94	
40							0,62	0,78	4,57	1,57	3,23	
45							0,65	0,79	4,71	1,73	3,60	
50							0,67	0,81	4,85	1,94	3,75	
55							0,71	0,92	5,07	2,05	4,00	
60							0,72	0,98	5,16	2,33	4,44	
RATA2 (15')	0,33	0,52	2,43	0,64	1,56	5,84	0,39	0,46	2,43	0,59	1,58	6,76

LAMPIRAN 5. (Lanjutan)

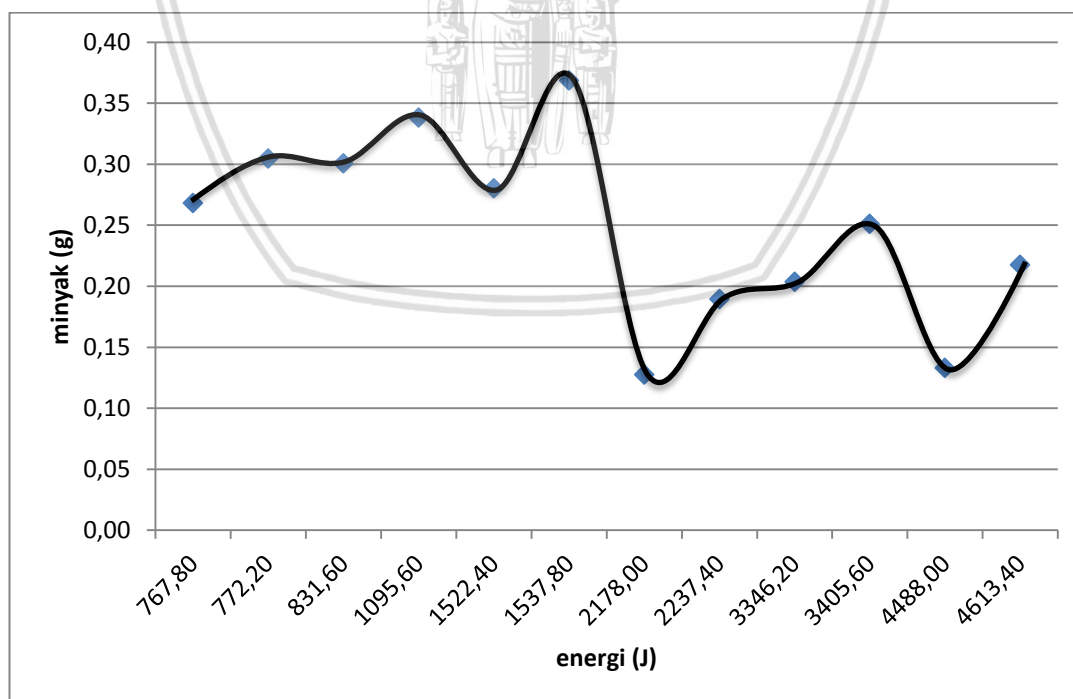
Tabel 10. Energi selama *pretreatment* tegangan rendah

detik ke-	ENERGI (Joule)											
	$V_{h1} T_{h1} M_{h0}$	$V_{h1} T_{h1} M_{h1}$	$V_{h1} T_{h1} M_{h2}$	$V_{h2} T_{h1} M_{h0}$	$V_{h2} T_{h1} M_{h1}$	$V_{h2} T_{h1} M_{h2}$	$V_{h1} T_{h2} M_{h0}$	$V_{h1} T_{h2} M_{h1}$	$V_{h1} T_{h2} M_{h2}$	$V_{h2} T_{h2} M_{h0}$	$V_{h2} T_{h2} M_{h1}$	$V_{h2} T_{h2} M_{h2}$
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	55,00	93,50	339,63	203,50	481,25	1.691,25	67,38	72,88	411,13	170,50	550,00	1.985,50
10	115,50	189,75	819,50	434,50	1.031,25	3.808,75	137,50	160,88	851,13	401,50	1.127,50	4.537,50
15	126,50	193,88	998,25	500,50	1.237,50	4.730,00	147,13	178,75	925,38	481,25	1.182,50	5.453,25
20	136,13	196,63	1.068,38	580,25	1.383,25		156,75	185,63	995,50	558,25	1.229,25	
25	144,38	199,38	1.157,75	654,50	1.471,25		162,25	189,75	1.060,13	629,75	1.303,50	
30	159,50	202,13	1.229,25	737,00	1.611,50		165,00	192,50	1.124,75	695,75	1.375,00	
35							166,38	198,00	1.182,50	770,00	1.504,25	
40							169,13	207,63	1.236,13	827,75	1.696,75	
45							174,63	215,88	1.276,00	907,50	1.878,25	
50							181,50	220,00	1.314,50	1.009,25	2.021,25	
55							189,75	237,88	1.364,00	1.097,25	2.131,25	
60							196,63	261,25	1.406,63	1.204,50	2.321,00	
TOTAL (15')	297,0	477,1	2157,4	1138,5	2750,0	10230,0	352,0	412,5	2187,6	1053,3	2860,0	11976,3
RATA2 (15')	99,0	159,0	719,1	379,5	916,7	3.410,0	117,3	137,5	729,2	351,1	953,3	3.992,1

LAMPIRAN 6. Konsumsi energi *pretreatment* tegangan menengah dan tegangan rendah

Tabel 11. Konsumsi energi *pretreatment* tegangan menengah

KODE	ENERGI, x, (J)	MINYAK, y, (g)
$V_{p3}T_{p1}M_{p0}$	767,80	0,27
$V_{p3}T_{p1}M_{p1}$	772,20	0,30
$V_{p2}T_{p1}M_{p0}$	831,60	0,30
$V_{p2}T_{p1}M_{p1}$	1095,60	0,34
$V_{p1}T_{p1}M_{p0}$	1522,40	0,28
$V_{p1}T_{p1}M_{p1}$	1537,80	0,37
$V_{p3}T_{p2}M_{p0}$	2178,00	0,13
$V_{p3}T_{p2}M_{p1}$	2237,40	0,19
$V_{p2}T_{p2}M_{p0}$	3346,20	0,20
$V_{p2}T_{p2}M_{p1}$	3405,60	0,25
$V_{p1}T_{p2}M_{p0}$	4488,00	0,13
$V_{p1}T_{p2}M_{p1}$	4613,40	0,22



Gambar 1. Kurva energi *pretreatment* per gram minyak untuk tegangan menengah

LAMPIRAN 6. (Lanjutan)**Tabel 12. Hasil inetrpolasi Newton *pretreatment* tegangan menengah**

Energi <i>pretreatment</i> (J)	Rendemen minyak (g)
2000	0,34
3000	0,16
4000	0,20

Contoh Perhitungan interpolasi Newton *pretreatment* tegangan menengah

i	X_i	$f(X_i)$	ST-1	ST-2	ST-3
0	1522,40	0,28	0,00574675	-0,00000934	0,0000000159
1	1537,80	0,37	-0,00037644	0,00000203	
2	2178,00	0,13	0,00104377		
3	2237,40	0,19			

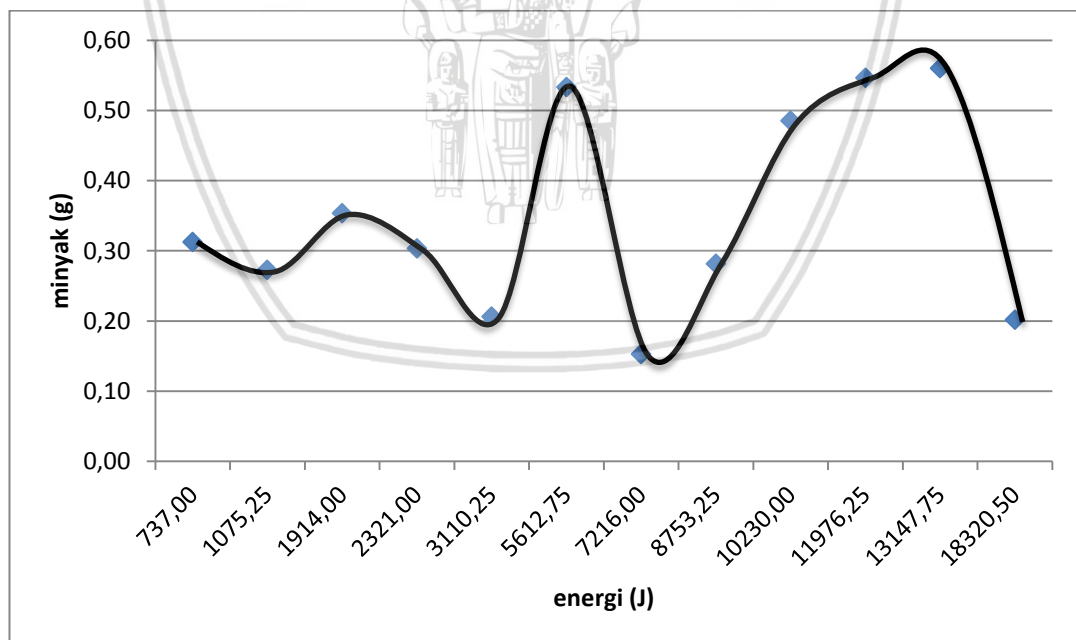
$X_i=2000$ (terletak antara 1537,80 dan 2178,00)

Hasil interpolasi $P_3(x) = 0,338077525$

LAMPIRAN 6. (Lanjutan)

Tabel 13. Konsumsi energi *pretreatment* tegangan rendah

KODE	ENERGI, x, (J)	MINYAK, y, (g)
$V_{h1}T_{h1}M_{h0}$	737,00	0,31
$V_{h1}T_{h1}M_{h1}$	1075,25	0,27
$V_{h1}T_{h2}M_{h0}$	1914,00	0,35
$V_{h1}T_{h2}M_{h1}$	2321,00	0,30
$V_{h2}T_{h1}M_{h0}$	3110,25	0,21
$V_{h1}T_{h1}M_{h2}$	5612,75	0,53
$V_{h2}T_{h1}M_{h1}$	7216,00	0,15
$V_{h2}T_{h2}M_{h0}$	8753,25	0,28
$V_{h2}T_{h1}M_{h2}$	10230,00	0,49
$V_{h2}T_{h2}M_{h2}$	11976,25	0,55
$V_{h1}T_{h2}M_{h2}$	13147,75	0,56
$V_{h2}T_{h2}M_{h1}$	18320,50	0,20



Gambar 2. Kurva energi *prtetreatment* per gram minyak untuk tegangan rendah

LAMPIRAN 6. (Lanjutan)

Tabel 14. Hasil inetrpolasi Newton *pretreatment* tegangan rendah

Energi pretreatment (J)	Rendemen minyak (g)
2000	0,35
3000	0,22
4000	0,29

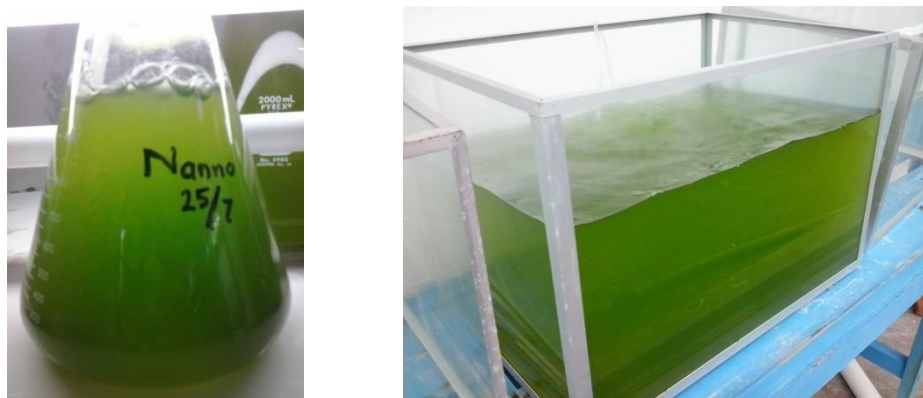
Contoh Perhitungan interpolasi Newton *pretreatment* tegangan rendah

i	X_i	$f(X_i)$	ST-1	ST-2	ST-3
0	1075,25	0,27	0,00009598	-0,00000018	0,0000000001
1	1914,00	0,35	-0,00012244	0,00000000	
2	2321,00	0,30	-0,00012311		
3	3110,25	0,21			

$X_i=2000$ (terletak antara 1914,00 dan 2321,00)

Hasil interpolasi $P_3(x) = 0,345284496$

LAMPIRAN 7. Foto-foto kegiatan penelitian



Gambar 3. Kultur mikroalga *Nannochloropsis* sp skala laboratorium



Gambar 4. Kultur mikroalga *Nannochloropsis* sp skala massal



Gambar 5. Pasta mikroalga *Nannochloropsis* sp

LAMPIRAN 7. (Lanjutan)



Gambar 6. Pengukuran kepadatan sel mikroalga *Nannochloropsis* sp



Gambar 7. Alat pembangkit listrik tegangan menengah dan tegangan rendah

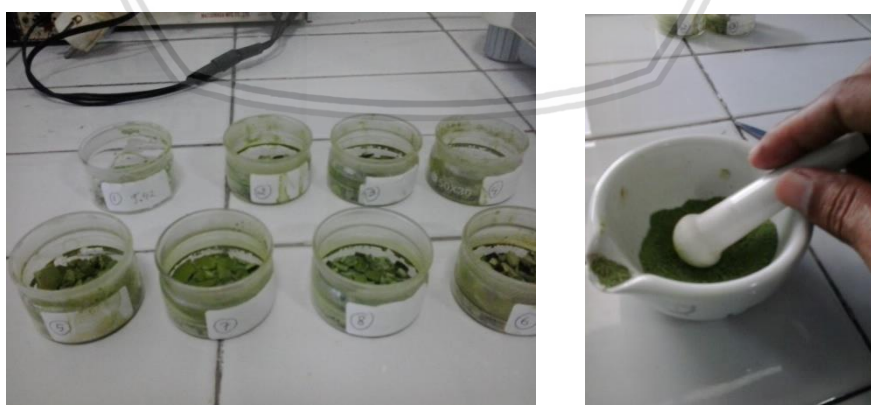
LAMPIRAN 7. (Lanjutan)



Gambar 8. *Pretreatment* menggunakan teg. menengah dan teg. rendah



Gambar 9. Pengukuran tegangan, arus dan suhu selama *pretreatment*



Gambar 10. Pengeringan dan penghalusan mikroalga kering

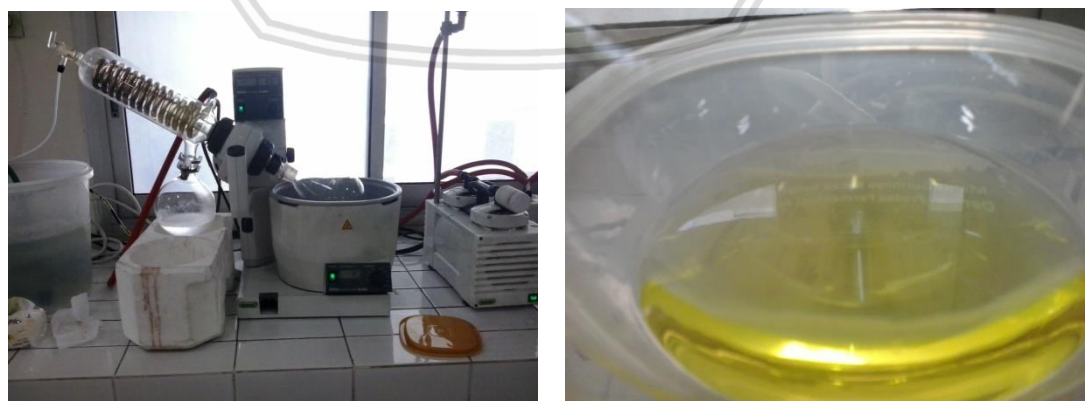
LAMPIRAN 7. (Lanjutan)



Gambar 11. Penimbangan bahan untuk persiapan ekstraksi

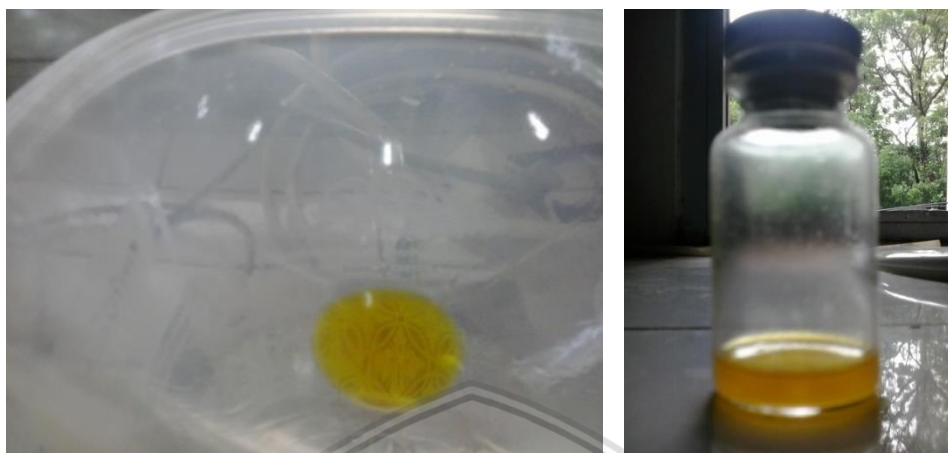


Gambar 12. Ekstraksi Soxhlet

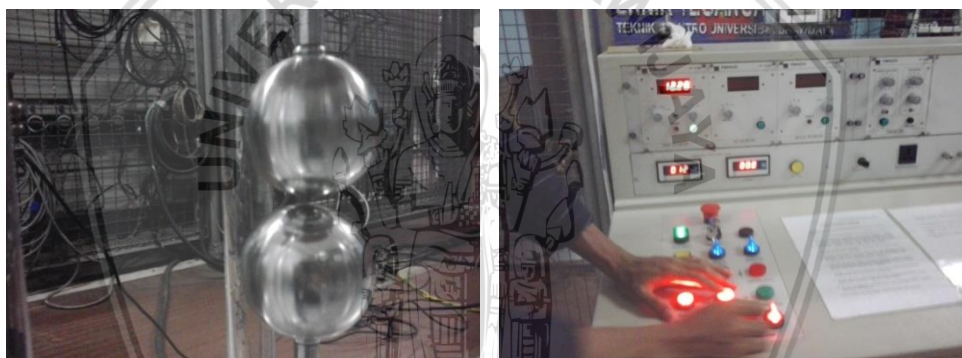


Gambar 13. Pemisahan minyak hasil ekstraksi

LAMPIRAN 7. (Lanjutan)



Gambar 14. Minyak mikrolaga hasil ekstraksi



Gambar 15. Peralatan untuk mengukur besarnya tegangan menengah